

Série A, N° 3.116

N° d'ordre :

3.988

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES

DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir

le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

par

JEAN BRISOU

Docteur en Médecine

Agrégé du corps de Santé de la Marine

1^{re} Thèse : **Contribution à l'étude de la famille
des Pseudomonadaceae**

(Données expérimentales - Nouvelle classification)

2^e Thèse : **Propositions données par la Faculté**

Soutenues le 18 Juin 1957 devant la Commission d'examen

MM. CHOUARD... *Président*

CHADEFAUD. }
ULRICH..... } *Examineurs*

IMPRIMERIE A. BAILLET

2, RUE GRANGENEUVE

BORDEAUX



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550212_0026

DU MÊME AUTEUR :

Action de l'acide monobromacétique et de ses esters sur la fermentation des tissus normaux et cancéreux. (Delmas, Bordeaux), 1933.

Les entérobactéries pathogènes. (Masson et C^{ie}), 1 vol., 1946 (couronné par l'Académie de Médecine).

La microbiologie du milieu marin. 1 vol., coll. Inst. Pasteur (Flammarion, 1955).

Série A, N° 3.116

N° d'ordre :
3.988

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir

le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

par

JEAN BRISOU

Docteur en Médecine
Agrégré du Corps de Santé de la Marine

1^{re} Thèse : **Contribution à l'étude de la famille
des Pseudomonadaceae**

(Données expérimentales - Nouvelle classification)

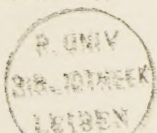
2^e Thèse : **Propositions données par la Faculté**

Soutenues le 18 Juin 1957 devant la Commission d'examen

MM. CHOUARD. . . *Président*

CHADEFAUD. }
ULRICH..... } *Examineurs*

IMPRIMERIE A. BAILLET
2, RUE GRANGENEUVE
BORDEAUX



Faculté des Sciences de l'Université de Paris

PROFESSEURS :

Doyen J. PERES

G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure	WIEMANN	T Chimie organ. structurale
FOCH	T Mécanique physique et expérimentale	JACQUINOT	T Spectroscopie et Physique céleste
PAUTHENIER	T Electrotech. générale	VASSY	T Physique de l'atmosphère
DE BROGLIE	T Théories physiques	DESTOUCHES	T Théories physiques
PRENANT	T Anatomie et Histol. compar.	PRUVOST	T Géologie
GARNIER	T Géométrie supérieure	AMIEL	T Chimie (P.C.B.)
PERES	T Méc. des fluides et appl.	HOCART	T Minéralogie
LAUGIER	T Physiologie générale	J.-P. MATHIEU	T Physique (P.C.B.)
M. CURIE	T Physique (P.C.B.)	COUTEAUX	T Biologie animale (P.C.B.)
BARRABE	T Géologie structurale et Géologie appliquée	MAY	T Biologie animale (P.C.B.)
G. DARMOIS	T Calcul des probabilités et Phys. mathématique	CHOQUET	T Calc. différ. et intégral
J. BOURCART	T Géogr. physique et Géologie dynamique	FELDMANN	T Biologie (P.C.B.)
PLANTEFOL	T Botanique	GUINIER	T Physique (P.C.B.)
GRASSE	T Evolution des êtres organ.	JOST	T Biologie (P.C.B.)
PREVOST	T Chimie organique	FORTET	T Calcul des probabilités
BOULIGAND	T Appl. de l'analyse à la Géométrie	SCHWARTZ	T Méthodes mathématiques de physique
CHAUDRON	T Chimie appliquée	CHOUARD	T Physiologie végétale
WYART	T Minéralogie	MALAVARD	T Aviation
TEISSIER	T Zoologie	BRELOT	T Calcul différentiel
MANGENOT	T Biologie végétale	NORMANT	T Chimie (P.C.B.)
P. AUGER	T Physique quantique et Relativité	BENARD	T Chimie (P.C.B.)
MONNIER	T Physiologie des fonctions	BUVAT	T Botanique (E.N.S.)
PIVETEAU	T Géologie	DUGUE	T Statistiques mathématiques
ROCARD	T Physique (E.N.S.)	GELOSO	T Chimie (S.P.C.N.)
H. CARTAN	T Mathématiques (E.N.S.)	SOULAIRAC	T Psychophysiologie
LAFFITTE	T Chimie générale	ULRICH	T Physiologie végétale
FAVARD	T Mécanique générale	MARECHAL	T Optique théorique et appliquée
COULOMB	T Physique du Globe	KIRSMANN	T Théories chimiques
Mlle COUSIN	T Biologie animale (P.C.B.)	CHADEFAUD	T Botanique
CHRETIEN	T Chimie minérale	DESTRIAU	T Physique (M.P.C.)
P. DRACH	T Zoologie	Mlle LE BRETON	T Physiologie générale
KASTLER	T Physique	SALEM	T Mathématiques générales
EPHROSSI	T Génétique	LELONG	T Mathématiques générales
WURMSER	T Biologie physico-chimique	DEVILLERS	T Anatomie et histologie comp.
RIVIERE	T Géologie (S.P.C.N.)	EHRESMANN	T Topologie algébrique
GAUTHERET	T Biologie végétale (P.C.B.)	FRANÇOIS	T Physique (M.P.C.)
LUCAS	T Recherches physiques	GLANGEAUD	T Géogr. physique et Géologie dynamique
A. THOMAS	T Biologie cellulaire	GODEMENT	T Mathématiques (M.P.C.)
ARNULF	T Optique appliquée	PISOT	T Calcul des probabilités
M. MORAND	T Physique	F. ROCH	T Géologie
SOLEILLET	T Physique	SCHARZMANN	T Astrophysique
FORTIER	T Mécanique expérimentale des fluides	TERMIER	T Paléontologie stratigraphique
DANJON	T Astronomie	ZAMANSKY	T Mathématiques générales
LAPORTE	T Physique générale et radio-activité	JOLIOT	T Physique nucléaire et radio-activité
JANET	T Méc. anal. et Mécanique céleste	LENNUIER	T Physique (P.C.B.)
PETIT	T Biologie maritime	RIZET	T Génétique
QUENEY	T Météorologie et dynamique atmosphérique	Mme TONNELAT	T Théories physiques
GALLIEN	T Embryologie	DIXMIER	T Mathématiques (M.P.C.)
EICHORN	T Biologie végétale (P.C.B.)	SOUCHAY	T Chimie (P.C.B.)
DE CUGNAC	T Biologie végétale (P.C.B.)	AIGRAIN	T Physique (P.C.B.)
Mlle CAUCHOIS	T Chimie physique	BRUSSET	T Chimie (P.C.B.)
THELLIER	T Physique du globe	M. LEVY	T Physique théorique
L'HERITIER	T Génétique	LENORMANT	T Physiologie
GRIVET	T Radioélectricité	Mme CHAIX	T Chimie biologique
PONCIN	T Mécanique des fluides	Mme HUREL-PY	T Biologie végétale (P.C.B.)
DUBREIL	T Arithmétique et théorie des nombres	PIAUX	T Chimie (P.C.B.)
QUELET	T Chimie organique	BRUN	T Mécanique expérimentale des fluides
CAGNIARD	T Géophysique appliquée	LEDERER	T Chimie biologique
CHAMPETIER	T Chimie macromoléculaire	Mme DUBREIL-JACOTIN	T Mathématiques
CUVILLIER	T Géologie structurale et Géologie appliquée	Mme LELONG-FERRAND	T Mathématiques (E.N.S.)
JUNG	T Pétrographie	BELLAI	T Géologie (S.P.C.N.)
TRILLAT	T Microscopie et diffraction électronique	COTTE	T Chimie (M.P.C.)
		J.-E. DUBOIS	T Chimie
		LAUTOIS	T Zoologie
		LE ROLLAND	T Mécanique des fluides
		MICHEL	T Chimie (P.C.B.)
		OLMER	T Energétique générale

Secrétaire Général C. MONIER

PLAN DE LA THESE

INTRODUCTION

HISTORIQUE

I. — ETUDE EXPERIMENTALE DES SOUCHES ISOLÉES

II. — RECHERCHES SUR LE METABOLISME DE QUELQUES PSEUDOMONADACEAE

III. — DISCUSSIONS TAXINOMIQUES CONSECUTIVES A L'EXPERIMENTATION, AMENDEMENTS DES DEFINITIONS, GENRES NOUVEAUX

IV. — ETUDE COMPARATIVE DES CLASSIFICATIONS AMERICAINE ET FRANÇAISE

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

SIGNIFICATION DES ABRÉVIATIONS EMPLOYÉES DANS LES TABLEAUX.

+ : *réaction positive.*

— ou O : *réaction négative.*

x : *réaction douteuse ou lente.*

d : *variable (irrégulièrement positive).*

M : *mobile.*

Pig : *pigments.*

L : *lait.*

N : *nitrites.*

I : *indole.*

G : *gélatine.*

U : *urée.*

KCN : *culture sur le milieu de Braun au KCN.*

Les sucres sont désignés par les trois premières lettres de leur nom.

RM : *Réaction au rouge de méthyle en milieu glucosé ; + coloration rouge, O ou — coloration jaune.*

VP : *réaction de l'acétylméthylcarbinol (Vosges-Proskauer).*

Al = *alcalin.*

Ac = *acide.*

INTRODUCTION

La famille des *Pseudomonadaceae* est, sans contredit, une des plus importantes du règne microbien puisqu'on peut actuellement y dénombrer plus de quatre cent soixante-dix espèces.

Les conceptions américaine et française sont en fréquente opposition à son sujet. Il règne une confusion qui conduit à des erreurs de détermination et à des différences d'appellation. Ces raisons suffisent pour faire admettre la nécessité d'une révision de cette vaste famille dont beaucoup d'espèces sont encore confondues avec des *Enterobacteriaceae* ou des *Moraxella*.

Ce travail conduit à :

1° Une étude comparée des classifications américaine et française dont disposent les bactériologues pour établir les diagnostics.

2° Une révision fondamentale des définitions et à l'élimination des espèces ne répondant pas exactement aux normes qui auront été proposées.

Il se poursuivra par un bilan des souches actuellement connues et à la reconstitution des clés de détermination. Ainsi deviendra-t-il déjà un instrument de travail. Les notions nouvelles seront, bien entendu, établies sur les considérations expérimentales exposées dans la première partie. Les bactéries ont toujours posé des problèmes difficiles à résoudre. Les secours que l'on peut attendre de la morphologie restent modestes. On mesure les bactéries, on recherche à mettre un appareil ciliaire en évidence, des capsules, des spores, etc., mais ceci repré-

sente peu de chose. On obtient davantage de renseignements en interrogeant le comportement biochimique des bactéries mises en présence de substrats aussi variés que possible. Des propriétés singulières comme l'uréolyse, la protéolyse, la destruction de la cellulose, de la chitine, etc., apportent des arguments de premier ordre au classificateur. On recherche en outre le pouvoir pathogène possible des microbes pour les plantes ou les animaux. Enfin, on tient compte de l'habitat des micro-organismes, de leur répartition dans le milieu extérieur.

L'allure générale de cette étude oriente vers la systématique. Les données biochimiques qui seront exposées concernent uniquement des microbes vivants, proliférants. Elles servent de base à la classification remaniée qui sera proposée.

Il y a, en effet, deux façons de concevoir la biochimie microbienne :

1° En travaillant sur des extraits microbiens, des bactéries non proliférantes, des préparations dites « *Cells-free* ». Ces techniques n'ont pas été mises en œuvre au cours de ce travail.

2° Sur des germes vivants, pris sur le vif, en présence de substrats variés, soit en milieu complexe, soit en milieux synthétiques chimiquement définis.

Les renseignements donnés par la deuxième méthode — qui a la préférence des microbiologistes — sont souvent différents de ceux que fournit la première. La cellule vivante fait en effet un choix parmi les aliments qui lui sont offerts. Une bactérie proliférante ne consomme pas les substrats à la façon d'enzymes libérés du complexe cellulaire. Elle ne consomme pas non plus tout à la fois. Si l'assimilation d'un produit suffit à sa croissance, elle laisse les autres de côté. J. MONOD a établi un des aspects de ce choix dans la notion de « *Diauxie* ».

Nous ne pouvons commencer cette étude sans témoigner notre gratitude à ceux qui nous ont aidé :

M. le docteur A.-R. PREVOT, chef de service à l'Institut Pasteur de Paris, a été notre guide constant. Sans son soutien il nous eut été impossible de mener notre entreprise à ses fins.

Parmi les nombreuses souches que nous avons étudiées, un certain nombre nous ont été fournies par des bactériologues amis ou sympathisants. Il faut notamment saluer au passage M. le professeur MEYER, de la Faculté de Strasbourg, M. le vétérinaire-capitaine TYSSET, le médecin de la Marine MENAN-TAUD. D'autres souches ont été étudiées avec la collaboration de nos amis MORICHEAU, BEAUCHANT, BARREAU, BOURELAT, MOLLARET, tous médecins de la Marine. M. le pharmacien-chimiste de la Marine PASQUET nous apporta aussi une aide précieuse dans l'étude de l'action des microbes sur les pétroles.

Nous adresserons enfin l'expression de notre reconnaissance aux maîtres de la Faculté des Sciences de Paris qui ont eu la bienveillance d'accepter la charge de juger notre travail. De leur accueil, des audiences qu'il nous ont accordées, nous les remercions. Qu'ils sachent surtout que les sentiments que nous exprimerons en évoquant notre passage à la Sorbonne resteront toujours marqués d'une profonde déférence et de respect. A ces Maîtres, MM. les Professeurs CHOUARD, ULRICH et CHADEFAUD nous offrons cette étude en témoignage de gratitude.

HISTORIQUE

Le terme *Pseudomonas* a fait son apparition en microbiologie au cours de l'année 1894. Il y fut introduit par MIGULA qui étudiait alors les bactéries chromogènes munies de cils polaires ; *Pseudomonas violacea* en était à l'époque le représentant-type. En 1895, le même MIGULA attribuait l'épithète *Pseudomonas pyocyanea* au *Bacterium aeruginosum* que SCHROETER avait décrit dès 1872. On sait que ce bacille est devenu depuis : *Pseudomonas aeruginosa*, le classique pyocyanique agent du pus bleu. On est en droit de dire que ce germe est le plus connu de la famille.

Depuis cette époque, l'épithète *Pseudomonas* ou des appellations voisines figurent dans la plupart des systématiques avec des fortunes diverses.

Il fallut attendre 1917 pour que fût vraiment définie la famille des *Pseudomonadaceae*. On en doit la primeur à WINSLOW et à ses collaborateurs qui s'exprimaient ainsi :

« Cellules non sporulées, allongées, droites ou légèrement incurvées ou spiralées.

» Un genre (*Mycoplana*) présente des ramifications.

» Normalement mobiles, grâce à des cils polaires, soit isolés, soit en touffes.

» Quelques espèces immobiles.

» Gram négatifs à de rares exceptions près.

» Cultivent bien et rapidement sur les milieux usuels avec exception pour les *Methanomonas*. Certains vibrions sont cel-

lulolytiques. Ils sont aérobies préférentiels, mais on compte des vibrions anaérobies, le type en est *Desulfovibrio*.

» On les rencontre dans les eaux, le sol. Ils peuvent être parfois pathogènes pour l'homme et les animaux. »

En 1917, KLEIN publiait lui aussi une systématique microbienne, mais les *Pseudomonadaceae* n'y étaient pas mentionnées. Les représentants de la famille étaient répartis dans les genres les plus variés.

En 1923, PRINGSHEIM, reprenant une ancienne systématique de LEHMANN et NEUMANN remontant à 1896, admet le genre *Pseudomonas* et le situe dans la famille des *Spirillaceae* en raison des formes incurvées ou spiralées dont reparlera WINSLOW plus tard dans sa définition. Nous verrons le grave inconvénient de cette conception et les abus qu'elle entraîna.

Avec JANKE, on constate une nouvelle éclipse des *Pseudomonadaceae* et des *Pseudomonas*.

Une systématique nouvelle paraît en 1926 et 1927 sous les signatures associées de LEHMANN et NEUMANN. Ces auteurs rajeunissent leur classification de 1896 et prennent cette fois les *Pseudomonas* en considération. Ils les incorporent à la famille des *Bacteriaceae* sous genre : r.

A cette époque, la famille des *Bacteriaceae* comprenait deux genres :

- a) *Bacterium*, et
- b) *Fusobacterium*.

Le premier ne groupait pas moins de vingt sous-genres. Le sous-genre « r », réservé aux *Pseudomonas*, voisinait avec les *Proteus* (S) et les chromogènes rouges (p) bleus ou violets (q). Ce groupage constituait déjà un indiscutable progrès en cherchant à rassembler les bactéries chromogènes dans des genres voisins. JANKE, deux ans plus tard, publiait une autre systématique où les *Pseudomonas* constituaient un des vingt-sept groupes du genre

Bacterium. Les vues de JANKE s'inspiraient donc nettement de la classification de LEHMANN et NEUMANN. La même année (1929), PRIBRAM situe les *Pseudomonas* dans l'ordre des *Métabactériales*.

A cette époque, on divisait les *Pseudomonas* en :

Tribu A : *Spirilleae*, genre *Spirillum*.

Tribu B : *Vibrionaeae*, genre *Vibrio*.

Tribu C : *Pseudomonadeae*, genre *Pseudomonas* et *Acetobacter*.

Dans cette systématique, il n'est pas le moindrement question de la chromogénèse. On rassemble dans une même famille des bactéries aussi dissemblables que des *Spirilles*, des *Bacilles* et des *Vibrions*.

En 1933, PRIBRAM reprend son travail de classification et propose l'ordre des *Pseudomonadales* qui permettra de grouper en quatre familles et vingt-cinq genres de très nombreuses espèces. Mais *Spirilles* et *Vibrions* restent intimement mêlés aux *Pseudomonadaceae*.

Voici cette classification, tout au moins dans la tranche où elle peut nous intéresser :

Ordre 2. — *Pseudomonadales*.

Famille 1. — *Pseudomonadaceae* :

Genre *a* *Pseudomonas*,

— *b* *Rhodobacillus*,

— *c* *Chromatium*,

— *d* *Nitrosomonas*,

— *e* *Vibrio*,

— *f* *Rhodovibrio*,

— *g* *Myxococcus*,

— *h* *Spirillum*,

— *i* *Rhodospirillum*,

— *j* *Thiospira*,

— *k* *Thiospirillum*.

Famille 2. — Serratiaceae :

Genre *Serratia*,
— *Hillhousia*.

Famille 3. — Nitrobacteriaceae :

Genre *a* *Nitrobacter*,
— *b* *Rhodobacterium*,
— *c* *Rhodocystis*,
— *d* *Didymohelix*,
— *e* *Sideromonas*,
— *f* *Siderocapsa*,
— *g* *Chondromyces*,
— *h* *Polyangium*,
— *i* *Amoebobacter*,
— *j* *Thiodyction*.

Famille 4. — Azotobacteriaceae.

Genre *a* *Rhizobium*,
— *b* *Azotobacter*.

L'année 1936 apporte la classification de KLUYER et Van NIEL. Ces auteurs reconnaissent l'utilité de la famille des *Pseudomonadaceae* et la divisent en trois tribus : *Spirilleae*, *Vibrionae*, *Pseudomonadeae* avec de nombreux genres.

Famille A. — Pseudomonadaceae.

Tribu I. — Spirilleae :

Genres *Thiospirillum*, *Phaeospirillum*, *Rhodospirillum*, *Sulfospirillum*, *Spirillum*.

Tribu II. — Vibrionae :

Genres *Chromatium*, *Rhodovibrio*, *Didymohelix*, *Vibrio*, *Desulfovibrio*.

Tribu III. — Pseudomonadeae :

Genres *Thiothece*, *Phaeomonas*, *Rhodomonas*, *Sulfomonas*, *Sideromonas*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Aceto-*

bacter, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Listerella*, *Aeromonas*, *Zymomonas*, *Methanobacterium*.

Cette classification mêle là encore les espèces les plus disparates. On se demande par exemple pourquoi les *Listerella*, bactéries essentiellement parasites, Gram positif, voisinent avec les *Azotobacter* ; bactéries du sol et des eaux, Gram négatif, dont la biologie est si différente.

En 1937, RHAN réduit la famille des *Pseudomonadaceae* qui comprend alors pour cet auteur les genres : *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Spirillum*, *Azotobacter* et *Rhizobium*. Il n'y a cette fois que six genres. Les chromogènes qui n'y figurent pas sont pour la plupart reportés dans la famille des *Enterobacteriaceae*.

En 1948 paraissent simultanément une nouvelle édition du « Bergey's Manual of determinative bacteriology » et la grande systématique microbienne de J. MACROU et A.-R. PREVOT.

Ce sont encore les deux systématiques officielles en vigueur actuellement.

La classification américaine, qui semble la plus suivie à l'étranger, offre de nombreuses divergences avec la systématique française. Elle s'inspire fortement des classifications dont nous venons de tracer l'historique. En ouvrant la porte à de multiples exceptions elle conduit à une confusion qu'il est difficile d'accepter à l'heure actuelle. On y trouve seulement deux tribus :

1° *Pseudomonadeae* ;

2° *Spirilleae*.

La systématique de J. MACROU et PREVOT reconnaît trois tribus :

1° *Pseudomoneae* ;

2° *Achromobactereae* ;

3° *Chromobactereae*.

Nous entreprendrons plus loin une étude critique de ces deux conceptions.

Depuis 1948, les choses en étaient donc là.

Appelé à isoler et à étudier des bactéries provenant, soit du milieu marin, soit de produits pathologiques, il nous était parfois difficile de classer correctement les germes. La lecture des périodiques spécialisés laisse entrevoir la gêne de bien des bactériologues mis en présence des germes isolés des eaux ou du sol.

Si l'on en veut des exemples frappants et récents, il suffit de citer « *Pseudomonas formica* » décrit, en 1954, par I.-P. CRAWFORD. Cet auteur attribue à tort l'épithète *Pseudomonas* à un germe qui ne sécrète aucun pigment. Il confond dans la discussion qui suit la description des *Pseudomonas* et des *Coliformes*.

Plus récemment encore, J.-E. MALLIGO, Leland PARR et M.-L. ROBBINS décrivent *Escherichia aurescens* et discutent à cette occasion d'*Escherichia chromogene*. En regardant de près les descriptions, ces germes sont tout simplement des *Chromobacteriae* puisqu'ils sécrètent un pigment rouge brun du groupe des caroténoïdes. Les auteurs ne signalent du reste pas l'action de leurs germes sur la gélatine, ce qui, à notre avis, constitue un oubli important.

Nous pourrions multiplier les exemples, nous avons voulu citer seulement ceux qui se sont le plus récemment présentés au hasard de nos lectures.

On a mêlé *Serratia*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Achromobacter*, etc., d'une façon telle qu'il est actuellement impossible d'y reconnaître un plan directeur. D'inoffensifs *Achromobacter* ont été confondus avec des *Shigella* ou des *Salmonelles* considérées comme atypiques. Des denrées alimentaires ont été condamnées, des eaux déclarées impropres à la consommation pour des germes tout à fait banals.

Il devenait urgent de mettre un terme à ces confusions. En 1950, nous avons entrepris des recherches systématiques sur les *Pseudomonadaceae* en nous attachant spécialement au genre *Achromobacter*.

Une première classification basée sur la mobilité des germes, leur action sur la gélatine et les nitrates permettait de désigner par des lettres de caractère mnémotechnique différents groupes de *Pseudomonadaceae* non chromogènes :

— Les espèces mobiles étaient caractérisées par la lettre : M.

— Les espèces immobiles par la lettre : I.

— Les souches réduisant les nitrates en nitrites par la lettre : N.

— Les espèces gélatinolytiques par l'initiale : G+.

Il importait en effet de faire un choix parmi les critères morphologiques et biochimiques que permet d'observer l'expérimentation.

On peut distinguer des critères que l'on appellera *majeurs*, tels que la protéolyse, la réduction des nitrates en nitrites, la glucidolyse, la mobilité, qui offrent peu de variabilité et des critères mineurs souvent variables, tels que la production d'H₂S, d'indole, l'alcalinisation du citrate de soude, etc.

Les grandes lignes de la classification tiennent compte en premier lieu des critères majeurs pour établir les genres. Les autres caractères servent à la distinction des espèces et des variétés dans un genre.

Par exemple, toute bactérie achromogène, mobile, Gram négatif, non pathogène pour les plantes, de la famille des *Pseudomonadaceae*, appartient au genre *Achromobacter*.

Les choix que l'on propose sont peut-être arbitraires. Mais qu'est-ce qu'une classification sinon un instrument de travail ? Une fois les conventions entendues et comprises, les définitions

acceptées, il appartient à l'expérimentation de dire si la systématique établie donne satisfaction.

Dans le cas présent des *Achromobacter*, nous avons pu former les groupes :

MNG+ : germes mobiles, nitrates réducteurs, gélatinolytiques.

MNG— : mobiles, nitrates réducteurs, non protéolytiques.

MG+ : mobiles, protéolytiques mais sans action sur les nitrates.

MG— : mobiles, sans action sur les nitrates et les protéines.

ING+ : immobiles, gélatinolytiques, protéolytiques.

ING— : immobiles, nitrates réducteurs sans action sur la gélatine.

IG+ : immobiles, gélatinolytiques seulement.

IG— : immobiles, sans action sur la gélatine et les nitrates.

Ce premier pas constituait une simplification. Il permettait d'étudier en détail bien des *Achromobacter* et des germes qui, jusque là, n'avaient pas encore été classés de façon définitive ou satisfaisante. Ce fut le cas pour *Fecalis alcaligenes* et des bactéries voisines, non dénitratantes, gélatinolytiques, non glucidolytiques que l'on plaçait improprement dans la famille des *Enterobacteriaceae* ne comprenant par définition que des espèces réduisant les nitrates en nitrites et attaquant le glucose.

Les thèses médicales de BOURLAT et BARREAU, soutenues devant la Faculté de Bordeaux en 1953, furent consacrées à ces premières tentatives de classification et de regroupement.

Avec A.-R. PREVOT nous avons poursuivi ce travail.

Il parut indispensable de séparer les germes mobiles des immobiles. La conception d'*Achromobacter* mobiles et d'*Achromobacter* immobiles nécessitait une modification de principe.

On ne pouvait admettre dans un même genre des espèces ciliées et des espèces dépourvues d'appareil locomoteur. Ceci fut une raison de créer un genre nouveau réservé aux espèces immobiles, le genre « *Acinetobacter* » (du grec : immobile).

Dans la systématique que nous présentions et que nous exposerons en détail plus loin, nous discutons du genre *Alcaligenes* pour en proposer la suppression. Tous les *alcaligenes* pouvaient effectivement trouver une place dans le genre *Achromobacter*.

La famille des *Mimeae*, créée en 1939, par de BORD, semblait aussi parfaitement superflue. La plupart des espèces décrites et groupées dans cette famille n'étaient, en fin de compte, que des formes courtes, coccoïdes de bactéries appartenant à des familles et à des genres déjà connus : *Moraxella*, *Achromobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, etc. Les *Mimeae* non glucidolytiques ou non gazogènes furent donc reclassées en grande partie dans la famille des *Pseudomonadaceae* et l'épithète imaginée par de BORD s'avéra inutile.

Ceci nous conduisit à la révision des *Moraxella* dont certaines espèces n'étaient pas sans affinités avec les *Achromobacter*. Nous montrerons également plus loin comment certains germes incorporés dans ce genre, sans raisons valables, en ont été retirés et classés dans notre systématique sous la rubrique « *Acinetobacter* ».

Les recherches bactériologiques que nous poursuivions sur le milieu marin nécessitaient à chaque instant les révisions taxinomiques. En dressant une liste aussi complète que possible des *Pseudomonadaceae* on mesurait la fantaisie des dénominations ainsi que nous l'avons souligné plus haut. Un nouveau travail s'imposait donc : la reclassification des espèces déjà décrites et l'adaptation des épithètes à la nomenclature française. Une partie de ce travail a été publiée dans la monographie que nous avons consacrée à la « Microbiologie du milieu marin » en 1955.

Enfin, tout récemment, il nous est apparu que l'on groupait encore dans le même genre *Flavobacterium* des espèces mobiles et immobiles : une distinction s'imposait, comme dans le cas des *Achromobacter*. Les *Flavobacterium* immobiles, dont beaucoup se trouvaient placés dans le genre *Aplanobacter*, avec des espèces non chromogènes, ont été regroupés sous l'étiquette nouvelle de : « *Empedobacter* » (stable, immobile).

Voici donc où en est le problème au moment où nous écrivons. En résumé, depuis 1917, WINSLOW a défini une famille : celle des *Pseudomonadaceae* ; cette famille s'avère une des plus riches du monde microbien, les représentants en sont extrêmement répandus, mais les classifications proposées depuis 1917 n'ont pas encore réussi à donner satisfaction aux microbiologistes. Les divergences sont telles qu'il devient impossible, même à l'heure actuelle, de classer correctement la plupart des *Pseudomonadaceae*.

On peut être à peu près certain que l'épithète donnée à une *Pseudomonadaceae* par un chercheur qui suivra la systématique américaine ne correspondra pas au nom que lui assignerait un bactériologue se référant à la classification française. Ce que l'un appellera *Pseudomonas* pourra être *Achromobacter* ou *Erwinia* pour l'autre. L'usage des deux systématiques actuellement en présence nous porte à donner la préférence à la conception française, plus stricte et aussi plus rationnelle, n'acceptant pas les multiples espèces ou variétés aberrantes dont les chapitres du « Bergey's Manual » sont surchargés en « appendice ».

Nous avons déjà souligné les graves inconvénients qu'entraîne l'admission des *Vibrionaceae* et des *Spirilleae* dans une famille qui ne doit comprendre que des bâtonnets Gram négatif. Cette conception provoque l'inévitable rencontre du bacille pyocyannique, agent du pus bleu, dans la même famille que *Desulfovibrio desulfuricans*, vibrion sporulé anaérobie, ou *Vibrio minus*, agent responsable du Sodoku.

PREMIERE PARTIE

Souches isolées
Etude expérimentale

EXPOSE DES TECHNIQUES EMPLOYÉES

Les bactéries qui seront décrites dans les pages qui vont suivre ont été isolées des milieux les plus divers : sol, eaux douces, eaux de mer, coquillages, poissons, vases, produits pathologiques humains et animaux, etc.

Un certain nombre de ces microbes étaient déjà connus ; nous avons pu dans la majorité des cas compléter les caractères cultureux.

Procédés de culture et d'isolement.

Les *Pseudomonadaceae* appartiennent à la flore mésotrophe. Leurs exigences nutritives sont réduites, aussi sont-elles dans la plupart des cas faciles à cultiver. Les milieux simples conviennent presque toujours.

Les procédés de routine dont il a été fait usage ici sont les suivants :

Milieux courants.

Gélose à la gélatine. — On fait un mélange à parties égales de gélose nutritive et de gélatine nutritive tamponnées à pH : 7,3.

Le milieu de base servant à la préparation de ces substrats était ainsi composé :

Bactopeptone : 5 g.

Extrait de viande : 5 g.

ou bouillon de viande : 1 000 ml.

NaCl : 5 g.

Gélose : 25 g.

ou gélatine : 150 g.

Eau distillée : 1 000 (au cas où le bouillon n'entre pas dans la composition de la préparation).

Stérilisation à 115° pendant un quart d'heure.

Répartition en tubes selon les techniques habituelles.
Seconde stérilisation à 110° : dix minutes.

Ce milieu préalablement fondu au bain-marie estensemencé avec le produit dont on veut étudier la population microbienne. On aura soin de pratiquer l'ensemencement aux environs de 40° au maximum et de couler immédiatement le milieu dans une boîte de Pétri posée sur de la glace pilée. Cette opération essentielle permet un refroidissement rapide et une solidification immédiate du substrat. De nombreuses bactéries des eaux, surtout des eaux de mer, sont, en effet, très sensibles à l'action de la chaleur et pourraient souffrir d'un séjour de quelques minutes à une température supérieure à 38°.

Les boîtes de Pétriensemencées resteront à l'obscurité et à 18°, on les surveillera chaque jour pour saisir l'apparition des colonies microbiennes et prélever celles-ci avant que le milieu ne soit liquéfié par d'éventuelles bactéries protéolytiques.

Chaque colonie intéressante sera repiquée sur les milieux ordinaires pour purification et identification.

Il n'est pas toujours nécessaire d'utiliser le mélange gélose-gélatine. On peut isoler des colonies intéressantes sur de la gélose ordinaire sans gélatine. Mais, dans ce cas, le point de fusion du milieu étant plus élevé, on risque de manquer l'isolement de germes très sensibles à la chaleur.

MILIEUX SELECTIFS

Ces milieux offrent l'avantage d'éliminer dès la première opération des bactéries banales dont on veut se débarrasser. Certains milieux permettent par exemple l'isolement rapide des bactéries halophiles. Ce sont les milieux à l'eau de mer. Voici le plus simple dont nous empruntons la formule à Zo BELL :

Eau de mer stabilisée : 1 000 ml.

Bactopeptone : 5 g.

Phosphate ferrique : 0,1 g.

pH ajusté à 7,5; stérilisation à 115°.

Ce milieu peut être gélosé à 2,5 % ou gélatiné à 15 %. On peut l'additionner de sucres ou autres substances pour l'étude des métabolismes microbiens.

Il convient à toutes les bactéries que l'on isole du milieu marin ou des animaux marins.

L'eau de mer stabilisée est une eau de mer prélevée au large dans des flacons de verre (ne pas employer de métaux) et entreposée pendant plusieurs semaines à l'obscurité et à la température ordinaire. Ce stockage permet à l'eau de prendre une composition fixe une fois disparue la flore qu'elle pouvait encore contenir lors du prélèvement. Cette eau de mer stabilisée est très supérieure à l'eau de mer artificielle à laquelle certains auteurs ont encore recours.

Milieu SS à l'eau de mer.

C'est un milieu que nous avons proposé il y a quelques années. Il donne d'excellents résultats pour l'isolement des *Pseudomonadaceae* du milieu marin. En voici le mode de préparation original :

Pour un litre d'eau de mer stabilisée :

Extrait de viande : 5 g.

Peptone : 5 g.

Lactose : 10 g.

Sels biliaires : 8,5 g.

ou bile de bœuf : 100 ml.

Hyposulfite de Na : 8,5 g.

Citrate ferrique : 1 g.

Gélose : 17 g.

Vert brillant : 0,003 g.

Rouge neutre : 0,025.

pH final : 7.

Dissoudre ces produits les uns après les autres dans l'eau bouillante. Ajuster le pH avec de la soude diluée.

Ajouter les colorants (vert brillant et rouge neutre) sous forme de solutions *in fine*.

Le milieu se conserve en petits ballons de 100 ml. On en coule sur boîtes de Pétri la quantité suffisante au moment de l'emploi.

On ensemente le milieu refroidi, en surface avec les produits à étudier. Ce sont en général des culots de centrifugation d'une eau de mer ou de broyat de fruits de mer ou de poissons.

On laisse incuber de préférence à 18° en prenant le soin de retourner la boîte de Pétri à l'envers pour éviter l'accumulation d'eau de condensation sur la surface du milieu, ce qui provoquerait une diffusion intempestive des colonies microbiennes et leur mélange. Des colonies bien séparées apparaissent assez rapidement. Les unes sont incolores, transparentes, d'autres roses, d'autres blanchâtres. Elles seront isolées séparément et identifiées selon les techniques habituelles.

Ce milieu, et les autres milieux du même groupe à base de sels biliaires, de désoxycholate, de vert brillant, vert lumière, cristal violet, etc., éliminent d'emblée toutes les bactéries

Gram positif. Tous ces milieux peuvent être préparés avec de l'eau de mer et rendre de très grands services dans l'étude de la flore marine et des bactéries halophiles que l'on veut rechercher dans les salaisons. Il nous est arrivé d'isoler des bactéries de la famille des *Pseudomonadaceae* sur le milieu de Van Dolden dont nous faisons usage pour la recherche des germes sulfates réducteurs des vases marines. Nous rappelons brièvement la composition de ce milieu :

Eau de mer : 100 ml.

Gélose : 3 g.

Lactate de Na : 0,5 g.

Asparagine : 0,1.

Mg SO₄, 7H₂O : 0,1.

K₂HPO₄ : 0,05.

Sel de Mohr (1) : traces.

TECHNIQUES UTILISÉES POUR L'ETUDE DES CARACTERES BIOCHIMIQUES

Fermentations des sucres.

Milieu de base :

Peptone : 5 g.

Eau : 1 000 ml.

pH ajusté à 7,0 avec NaOH diluée.

Le sucre est ajouté au moment de l'emploi sous forme de solution concentrée stérilisée par tyndallisation.

(1) Sulfate de fer et d'ammonium.

Taux de sucre terminal : 1 %.

Indicateur de virage : bleu de bromothymol en solution dans l'alcool à 50 % : 1 goutte.

En cas de fermentation, virage au jaune.

Alcalinisation : virage au bleu.

Si le germe est sans action, le milieu conserve la teinte verte de la neutralité.

Recherches d'H₂S.

De nombreuses méthodes ont été proposées. Nous avons montré avec MORAND, en 1952, que l'addition de sels de métaux lourds, comme le sous-acétate de plomb, aux géloses nutritives pouvait modifier les caractères biochimiques des germes. Les techniques préconisant ce mode de détection ont donc été ici abandonnées. Les germes à étudier sont ensemencés en eau peptonée ou en bouillon nutritif. Le tube de culture est surmonté d'un papier filtre imprégné d'une solution saturée de sous-acétate de plomb. Le dégagement d'H₂S se traduit par un noircissement plus ou moins intense du papier réactif.

Recherche des nitrites.

La bactérie est mise en culture dans une eau peptonée contenant 1 % de nitrate de potassium pur.

Lorsque la culture est développée (24 à 48 heures), on ajoute 1 ml de réactif de Tromsdorff pour 5 ml de culture de 1 à 11 gouttes d'acide sulfurique pur concentré. La présence de nitrites se traduit par l'apparition instantanée d'une coloration bleue intense. Cette réaction est une des plus simples. Nous l'avons utilisée un certain temps mais sa spécificité est mise en doute. Aussi préférons-nous la technique de Griess au réactif sulfanilique et naphthylamine.

Le réactif de Griess, rappelons-le, se compose d'une solution :

A : acide sulfanilique à 0,50 dans 150 ml d'acide acétique à 10 % ;

B : a-naphtylamine à 0,10 pour 150 ml d'acide acétique à 10 %.

A 5 ml de culture on ajoute 1 ml de réactif A et 1 ml de réactif B. Une coloration orange indique la présence de nitrites.

C'est à cette réaction que nous avons accordé la préférence en raison de sa plus grande spécificité.

Recherche de l'indole.

Le germe est cultivé pendant vingt-quatre à quarante-huit heures dans une eau peptonée à 1 % (1). On verse quelques gouttes de réactif de Kowacks dans la culture. La présence d'indole est indiquée par un anneau rouge cerise. Rappelons encore la composition du réactif :

Paradiméthylaminobenzaldéhyde : 5 g.

Alcool amylique : 75 ml.

Acide chlorhydrique pur : 25 ml.

Le paradiméthylaminobenzaldéhyde est dissout dans l'alcool chauffé à 70° au bain-marie. La dissolution est rapide. On refroidit le mélange dans la glace. On ajoute l'acide par petites fractions en agitant. Faute de cette précaution, le réactif aurait une teinte foncée qui nuit à la sensibilité de la réaction. Le liquide de Kowacks préparé avec les précautions indiquées doit avoir une belle teinte jaune d'or clair. On le conserve en flacons teintés.

Attaque de l'urée.

Là aussi, différentes méthodes ont été préconisées. Nous en avons fait une critique expérimentale en 1949. Dans notre étude présente le test de l'uréolyse a toujours été pratiqué en milieu

(1) Exiger une peptone pure, dite « exempte d'indole ».

rigoureusement synthétique où l'urée représente *la seule source de carbone* mise à la disposition de la bactérie. Nous n'ajoutons jamais ni peptone ni extrait de levure. Nous avons même supprimé l'alcool préconisé par FERGUSON-HOOK. Notre milieu est alors le suivant :

Urée : 2 g,
PO₄KH₂ : 0,1,
PO₄K₂H : 0,1,
Eau : 100 ml.

Ajuster à pH 7. Ajouter quelques gouttes d'une solution aqueuse de bleu de bromothymol pour teinte verte. Stériliser par filtration ou tyndallisation à 60°.

L'attaque de l'urée par une bactérie se traduit par un virage au bleu roi du milieu par suite de la formation de sels de NH₄.

Culture sur le citrate de soude.

Cette épreuve biochimique classique se pratique sur le milieu de Koser ou de Koser-Simmons. Le second n'étant pratiquement que le premier additionné de gélose.

Voici la formule de base :

Phosphate de soude et d'ammoniaque : 1,5 g.
Phosphate monopotassique : 1 g.
Sulfate de magnésium : 0,20 g.
Citrate de soude cristallisé : 2,5 g.
Eau distillée : 1 000 ml.
pH 7.

L'indicateur de virage sera le bleu de bromothymol. Nous l'ajoutons sous forme de solution alcoolique concentrée. Il suffit de quelques gouttes pour communiquer au milieu la teinte désirable.

Si l'on veut un milieu solide, on ajoute 2,5 % de gélose en poudre. Stérilisation à 105°, après répartition en tubes.

Les germes ont des comportements différents sur ce milieu : les uns cultivent en l'alcalinisant, teinte bleu roi ; ils sont dits « *citrate positifs* ».

D'autres cultivent en acidifiant le milieu. On le signale seulement.

Un troisième lot enfin ne cultive pas du tout : il est représenté par les bactéries dites « *citrate négatifs* ».

Réaction des peroxydases et catalases.

Peroxydases. — A une culture en eau peptonée de vingt-quatre à quarante-huit heures, on ajoute quelques gouttes d'eau oxygénée puis, aussitôt après, quelques gouttes de teinture de gaïac fraîchement préparée. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration bleue intense.

Catalases. — Dans une culture en eau peptonée elle aussi, de vingt-quatre à quarante-huit heures, ajouter quelques gouttes d'eau oxygénée. Les catalases provoquent la formation de petites bulles gazeuses qui viennent s'accumuler à la surface du milieu de culture.

Test de l'A.P.P. (acide phénylpyruvique).

En 1950, HENRIKSEN a signalé la transformation de la phénylanine en acide phénylpyruvique par les *Proteus*.

Il nous a paru utile de pratiquer ce test sur certaines bactéries protéolytiques, protéiformes. Tous les *Proteus* et les *Enterobacteriaceae* du groupe *Providencia* donnent, on le sait, un test de l'A.P.P. positif. Il s'agissait donc dans notre esprit d'une épreuve servant à l'élimination d'*Enterobacteriaceae* possibles pouvant appartenir au groupe dont nous venons de parler.

Dans un tube de petit calibre on prépare une émulsion microbienne épaisse avec le germe à étudier. On partira, bien

entendu, d'une culture récente sur gélose. A 0.5 ml de cette émulsion mélanger 0.5 ml de phénylalanine à 0.1 % dans l'eau distillée et 1 goutte de rouge de phénol à 0.01 %. Ajouter encore 1 goutte de CO_3Na_2 M 10 pour amener la réaction à la teinte rouge. Agiter. Incliner le tube. Laisser reposer quatre heures à la température ambiante.

Au bout de ce temps, ajouter $\text{SO}_4 \text{ H}_2$ à 10 % pour amener la teinte au jaune rosé. Puis une pointe de couteau de $\text{NH}_4 \text{ SO}_4$ et cinq gouttes d'une solution d'alun de fer ammoniacal à demi saturation.

Une coloration verte immédiate apparaît s'il y a eu formation d'acide phénylpyruvique.

Attaque de la cellulose.

Nous avons pratiqué cette épreuve sur un certain nombre de germes. La technique suivie est des plus simples : dans une eau peptonée faible, 1 %, tamponnée à pH 7.5, nous introduisons une lanière de papier filtre stérile. Onensemence le milieu et on abandonne le tout, soit à l'étuve, soit à la température ambiante suivant le germe en culture. L'observation des cultures doit se poursuivre au moins trois semaines.

Au cours de recherches plus spéciales, il a été fait usage de milieux plus complexes et moins habituels. Ils seront indiqués en temps utile (milieux synthétiques, milieux à la tyrosine, milieux à base d'hydrocarbures, etc.).

Pour les produits bactériifères provenant de maladies humaines, les techniques courantes de microbiologie médicale ont été mises en œuvre. Nous ne pouvons les décrire ici. Soulignons seulement que les pus, urines, crachats, etc., ont été ensemencés sur gélose ordinaire, bouillons simples ou biliés, milieux SS ou de Kristensen-Kauffmann, etc.

Epreuve au KCN.

Pour cette épreuve qui consiste à contrôler la culture des germes en présence de cyanure de potassium, nous nous som-

mes adressé à la technique de Braun-Vagn Moller (195). Voici le procédé.

Milieu de culture :

Peptoné : 10 g.

Na cl : 5 g.

KH₂ PO₄ : 0,225 g.

Na₂H PO₄ : 5 640 g.

H₂O : 1 000 ml.

Stériliser en tubes à raison de 5 ml par tube.

Au moment de l'emploi, ajouter 1 ml d'une solution stérile de KCN à 0,40 %.

Ainsi, l'eau peptonée de base sert à plusieurs fins.

ETUDE DES SOUCHES ISOLÉES

1° *Origine : eau d'aquarium.*

Germe mobile, Gram négatif, non sporulé.

Cultive bien à la température ambiante (18°) sur les milieux ordinaires.

Bouillon : trouble uniforme, pas de voile.

Gélose : colonies circulaires, extensives, blanchâtres, lisses.

Pas de pigmentation du milieu ni des enduits microbiens.

Lait tournesolé : inchangé ou lentement alcalinisé.

Pas de culture sur la pomme de terre.

Caractères biochimiques.

Protéolyse énergique sur la gélatine.

Indole : + + . H₂S : + + . Uréolyse : négative.

Fermente l'arabinose, dextrine, galactose, glycérine, lactose, levulose, mannitol, glyose, maltose et amidon sans gaz.

Sans action sur le xylose, raffinose, rhamnose, salicine, inositol et inuline.

Nitrates réduits en nitrites.

En milieu synthétique : alcalinisation de l'hippurate, malate et succinate. Pas d'action sur le d-tartrate et le mucate.

Position taxinomique.

Ce germe mobile, non chromogène, non gazogène, entre dans la tribu des *Achromobatereae*, genre *Achromobacter*. Il appartient au groupe des germes réducteurs de nitrates en nitrites, protéolytiques et glucidolytiques putrides. Il s'agit là de l'espèce *Achromobacter iophagum*.

Ce germe a déjà été décrit par GRAY et THORTON, en 1928, sous l'étiquette « *Bacterium iophagum* ».

Le terme *Bacterium* ne s'applique dans la systématique française qu'à des bactéries Gram positif, non sporulées. Nous adoptons donc la terminologie proposée par le « Bergey's Manual » et complétons les caractères biochimiques de la bactérie.

Un sérum agglutinant fut préparé en injectant le germe à des lapins. Cultures formolées. Injections intraveineuses : deux fois par semaine pendant trois semaines. Le sérum obtenu agglutinait la souche étudiée; en outre, il se montrait actif vis-à-vis d'une souche d'*Acinetobacter anitratum* de collection.

2° Origine : eau de mer (Toulon).

Germe mobile, non sporulé, Gram négatif.

Aérobie de prédilection.

Cultive sur les milieux ordinaires à la température ambiante (18°) et à 37°.

Gélose : colonies lisses, vernissées, blanchâtres. Pas de pigmentation.

Sur ce milieu, apparition de formes courtes.

Bouillon : trouble homogène.

Lait tournesolé : inchangé.

Pomme de terre : culture normale; enduit chamois clair.

La culture se développe lentement.

Biochimie.

Gélatine : liquéfiée.

Indole : 0. H₂S : 0. Uréolyse : négative.

Citrate de soude lentement alcalinisé.

Nitrates non réduits en nitrites.

Réactions des peroxydases et catalases : négatives.

Acidifie sans gaz : glucose, arabinose, xylose, mannite, levulose, salicine, inuline, raffinose, rhamnose, dextrine, glycérol, inositol. Sans action sur le lactose.

En milieu synthétique, alcalinise le mucate, fumarate, succinate et malate de soude.

Position taxinomique.

Il s'agit là encore d'un *Achromobacter*, puisque mobile et achromogène. Cette fois, nous sommes dans le groupe des protéolytiques, glucidolytiques non réducteurs de nitrates en nitrites.

Il s'agit ici de l'espèce *Achromobacter litoralis*.

Décrit par RUSSEL, en 1881, sous le nom de *Bacillus litoralis*, puis par CHESTER, en 1897, sous l'étiquette de *Pseudomonas litoralis*. Aucun des termes ne convient. Il faut admettre là encore l'épithète de « Bergey » « *Achromobacter litoralis* », puisque la bactérie est achromogène.

Nous avons complété les caractères biochimiques.

Cette espèce passait jusqu'ici comme étant d'origine marine.

Nous en avons cependant isolé une autre souche de l'eau d'un puits.

Le germe isolé de l'eau de mer fut, lui aussi, agglutiné par le sérum anti-*iophagum*.

3° Eau de mer (Toulon).

Bacille mobile, non sporulé, non capsulé, Gram négatif.

Cultivant aisément sur les milieux usuels.

Non chromogène.

Trouble homogène dans les bouillons.

Culture lente sur pomme de terre.

Biochimie.

Ne liquéfie pas la gélatine. Indole et H₂S : 0.

Uréolyse négative.

Pouvoir glucidolytique élevé. Attaque sans gaz : glucose, raffinose, rhamnose, maltose, saccharose, lactose, amidon, glycérol, mannite.

Nitrates réduits en nitrites.

Peroxydase : 0. Catalase : +.

Cet achromobacter pouvait être le bacille décrit par KELLERMAN, MCBETH, SCALES et SMITH, en 1913, sous le nom de *Pseudomonas tralucida*, ou l'espèce voisine décrite en 1916 par MCBETH sous le nom de *Pseudomonas mira*.

Il ne peut s'agir de *Pseudomonas* puisqu'on n'observe aucune sécrétion de pigment bleu, vert, marron ou fluorescent diffusant dans les milieux.

Ces germes sont encore décrits par le « Bergey's Manual » sous ces appellations variées.

Les caractères décrits d'après la souche que nous avons isolée obligent à considérer le microbe comme appartenant à la tribu des *Achromobactereae*, genre *Achromobacter*.

Nous proposons la nouvelle appellation *Achromobacter tralucida*.

Dans la systématique que nous envisagerons, ce germe entrera dans le groupe des *Achromobacter* non protéolytiques. réducteurs de nitrates, glucidolytiques.

4° *Ecailles de poisson.*

Bacille Gram négatif mobile, asporulé, non capsulé.

Culture aisée dès le second passage sur les milieux non salés.

Gélose : enduit lisse, vernissé, translucide. Pas de pigmentation.

Bouillon : trouble uniforme.

Lait tournesolé inchangé, puis lentement acidifié.

Cultive sur la pomme de terre.

Biochimie.

Indole : +. H₂S : 0. Nitrites : +. Uréolyse : négative.

Gélatine rapidement liquéfiée.

Acidifie sans gaz : glucose, maltose, saccharose, mannite, arabinose et galactose.

Sans action sur le lactose, le glycérol et le xylose.

Ne cultive pas sur le citrate de soude.

Catalase : + +. Peroxydase : 0.

Cultive sur le milieu de Braun au KCN.

Réaction de l'A.P.P. : négative.

Position taxinomique.

ZOBELL et UPHAM ont décrit, en 1944, un germe très voisin. mais adapté au milieu marin que WELLS et ZOBELL avaient déjà identifié quelques années auparavant.

Lors de leur première étude, les auteurs américains employèrent l'épithète très normale d'*Achromobacter ichthyodermis*. Mais, en 1944, ils optèrent pour le genre *Pseudomonas* malgré l'absence de pigment.

Il faut donc revenir au terme *Achromobacter*. La bactérie que nous avons isolée est *Achromobacter ichthyodermis*.

Elle présente les caractères essentiels du germe décrit par ZOBELL et ses collaborateurs.

Notre souche n'est qu'une variété s'adaptant rapidement aux milieux non salés. Elle acidifie lentement le lait tournesolé. Ce sont là des différences mineures.

Nous avons complété l'étude des réactions sucrées et signalé quelques particularités biochimiques (A.P.P., uréolyse, culture en KCN, etc.).

Une autre souche isolée des boues de la Charente a été soumise à nos investigations. Elle offrait les mêmes caractères que l'espèce toulonnaise.

5° *Intestins de poissons.*

Bacille très court, immobile, non sporulé, non capsulé, Gram négatif.

Cultive aisément sur tous les milieux.

Isolé sur milieu synthétique sans peptone ni extrait de viande.

Ne pousse ni sur la pomme de terre ni sur le citrate de soude en milieu de Koser-Simmons.

Biochimie.

Gélatine liquéfiée. Indole et H₂S : 0.

Lait tournesolé inchangé.

Ne fermente aucun sucre.

Sans action réductrice sur les nitrates.

Péroxydase : 0. Catalase : +.

Position taxinomique.

L'immobilité de cette espèce, l'absence de pigment orientent immédiatement vers la tribu des *Achromobactereae*, genre *Acinetobacter*.

L'espèce la plus proche est *Acinetobacter marshalii*, décrit dans les traités sous le nom d'*Alcaligenes marshali*, ancien *Bacterium lactis marshali* de CONN, ESTEN et STOCKING (1906).

La variété que nous avons isolée est évidemment une espèce marine. Elle diffère de l'espèce que nous proposons pour type par sa culture négative sur pomme de terre.

Les caractères majeurs : gélatinolyse, action nulle sur les glucides et les nitrates imposent la position que nous proposons.

6° *Toujours de l'intestin de poissons de mer*

nous avons isolé le germe suivant.

Bacille court, immobile, non sporulé, non capsulé, Gram négatif.

Culture facile en milieu synthétique sans peptone.

Ne cultive pas sur la pomme de terre ni sur le citrate de soude en milieu de Koser-Simmons.

Culture normale sur les milieux peptonés usuels.

Biochimie.

Gélatine non liquéfiée. Indole et H₂S : 0. Uréolyse positive.

Lait tournesolé inchangé (pas de culture).

Fermente sans gaz : arabinose, saccharose, glucose.

Les nitrates ne sont pas réduits en nitrites.

Catalase : +. Péroxydase : 0.

Là encore, nous avons affaire à une souche d'*Achromobactereae* immobile, donc *Acinetobacter*.

Cette souche offre tous les caractères essentiels d'un germe décrit par LEMOIGNE et ses collaborateurs sous l'étiquette depuis rectifiée de *Neisseria winogradsky*.

Dans notre systématique, ce microbe porte le nom d'*Acinetobacter winogradsky*.

Primitivement isolée du sol, cette bactérie habite, comme on le voit, l'intestin des poissons de mer. Elle est donc plus ubiquitaire et plus répandue qu'on ne le pensait.

7° *Boue marine.*

Germe mobile, Gram négatif, non sporulé, non capsulé.

Culture aisée sur les milieux usuels à la température ambiante de 18 à 20°.

Cultive bien sur la pomme de terre.

Ne pousse pas sur le citrate de soude en milieu de Koser-Simmons.

Biochimie.

Ne liquifie pas la gélatine.

Indole : +. H₂S : 0. Uréolyse positive.

Lait : pas de culture.

Fermente sans gaz : arabinose, glucose, mannitol et saccharose.

Sans action sur le lactose, xylose et rhamnose.

Nitrates réduits en nitrites.

Catalase : +. Péroxydase : 0.

Position taxinomique.

Nous sommes ici en présence d'une *Achromobacteraceae*, genre *Achromobacter*. Il n'y a aucune sécrétion de pigment dans les cultures.

Il existe deux espèces non protéolytiques, réductrices de nitrates en nitrites et indologènes, ce sont *Achr. pinnatum* et

Achr. gemminum. Le premier germe et connu pour son inaction sur l'urée. Nous avons classé notre bactérie dans l'espèce *gemminum*, décrite très insuffisamment par RAVENEL, en 1896, et CHESTER, en 1897.

Il s'agit d'une bactérie du sol.

8° Ruisseau d'eau de mer.

Sur milieu SS à l'eau de mer.

Germe mobile non sporulé, Gram négatif.

Culture facile sur les milieux usuels à la température ambiante.

Cultive sur la pomme de terre.

Pas de culture sur le citrate de soude en milieu de Koser-Simmons.

Bouillon trouble uniforme.

Biochimie.

Gélatine non liquéfiée. Indole : 0. H₂S : +.

Uréolyse négative.

Lait tournesolé : acidifié.

Fermente sans gaz : arabinose, galactose, glucose, mannitol.

Sans action sur le lactose, raffinose, rhamnose, xylose.

Nitrates réduits en nitrites.

Catalase : +. Péroxydase : 0.

Position taxinomique.

Cette espèce est encore un *Achromobacter*.

Elle présente les caractères majeurs : gélatine non liquéfiée, acidification du lait, réduction des nitrates, mêmes caractères glucidolytiques que l'espèce décrite sous le nom de *Achromonacter labrum* par CAMPBELL et WILLIAMS, en 1951.

Ces auteurs donnent leur germe comme habitant des eaux de mer et de la boue marine.

La souche que nous avons isolée également de la boue marine se distingue du type décrit uniquement par la production de H₂S. Il s'agit donc d'une variante et non d'une nouvelle espèce.

9° *Fumier de lapin.*

Les parcelles de fumier furent ensemencées dans un milieu streptomyciné à 1 milligramme par ml. Les cultures repiquées sur gélose ordinaire ont permis l'isolement d'un bacille mobile Gram négatif, non sporulé, non capsulé.

Cultive bien sur tous les milieux usuels, y compris la pomme de terre.

Caractères biochimiques.

Gélatine non liquéfiée. Indole : 0. H₂S : +.

Uréolyse : négative.

Lait tournesolé : inchangé.

Fermente le glucose, arabinose, xylose, rhamnose, saccharose, lactose, levulose, galactose, raffinose, amidon, mannitol sans gaz.

Nitrates non réduits en nitrites.

Péroxydase : 0. Catalase : +.

Citrate : culture lente.

Il s'agit là, de toute évidence, d'un *Achromobacter*.

Son classement fut aisé car il offre tous les caractères décrits par le « Bergey's Manual » sous la rubrique *Achromobacter guttatum* (ZIMMERMAN) Bergey et all.

Nous avons complété les caractères biochimiques de l'espèce à cette occasion.

10° *Eau d'une station hydrominérale.*

Isolée sur milieu SS à l'eau douce.

Bacille Gram négatif, assez trapu, très mobile.

Culture abondante et épaisse sur gélose.

Bouillon troublé, voile en surface assez épais tombant au fond du tube au bout de quelques jours.

Les colonies sur gélose deviennent visqueuses en vieillissant.

Biochimie.

Gélatine : non liquéfiée au quinzième jour.

H₂S : 0. Indole : 0. Uréolyse : 0. Citrate de soude : pas de culture.

Nitrates non réduits en nitrites.

Cultive sur milieu minéral additionné d'asparagine et glycérine.

Fermente sans gaz : xylose, glucose, maltose et saccharose.

Sans action sur le lactose, arabinose et mannite.

Position taxinomique.

Ce germe est un *Achromobacter* non protéolytique, glucidolytique.

Il correspond au bacille décrit par GRAY et THORTON en 1928 sous le nom impropre de *Pseudomonas salopium*, rectifié par BERGEY qui le nomme *Achromobacter*. Il n'y a, en effet, aucune sécrétion de pigment.

Nous avons largement complété les caractères biochimiques réduits à l'action sur deux sucres dans les traités classiques.

L'inoculation d'un ml d'une culture en bouillon à une souris resta sans effet. Le germe n'est donc pas pathogène.

11° *Eau d'une station hydro-minérale.*

Bâtonnets très courts, trapus, Gram négatif, très mobiles.

Sur gélose, cultures abondantes, luisantes, translucides, coulantes, butyreuses.

Bouillon trouble uniforme, pas de pigments, pas d'odeur.

Gélatine liquéfiée en trois jours.

Lait : acidifié.

Biochimie.

Nitrates réduits en nitrites.

Citrate de soude : pas de culture.

Indole : 0. H₂S : 0. Uréolyse : 0.

Fermente sans gaz : glucose, lactose et saccharose, mannite, galactose, levulose, maltose.

Indole : 0. Glycérol : +, lent.

Catalase : 0.

Tyrosinase : 0.

Sérum coagulé : culture assez riche. Pas d'attaque du milieu. Pousse en milieu minéral additionné de glycérine et asparagine.

Position taxinomique.

On se trouve ici en présence d'un germe non chromogène répondant à la définition des *Achromobacter*. Espèce protéolytique, réduisant les nitrates en nitrites, glucidolytique.

Le diagnostic *Achromobacter delicatulum* (JORDAN) Bergey et al., convient.

Nous avons retrouvé ce germe à plusieurs reprises, notamment dans des coquillages à Cannes et en médecine humaine, ce qui nous a permis de compléter cette description.

12° *Eau d'une station hydro-minérale.*

Isolé sur plaque de gélatine nutritive. Germe trapu, Gram négatif, neisseriforme, immobile.

Cultive aisément sur les milieux usuels.

Enduits épais sur la gélose, consistance crémeuse, muqueuse, blanc grisâtre.

Cultive en milieu synthétique minéral additionné de glycérol et asparagine.

Sérum coagulé enduit, blanc grisâtre, pas d'attaque du milieu.

Biochimie.

Gélatine : non liquéfiée.

Citrate de soude : pas de culture.

Uréolyse : négative. Indole : 0. H₂S : 0.

Sans action sur les sucres tels que glucose, lactose, saccharose.

Le lait reste inchangé au huitième jour.

Les milieux sucrés finissent par virer au pH alcalin.

Les nitrates sont réduits en nitrites très rapidement.

Position taxinomique.

L'immobilité, la morphologie, l'absence de pigments orientent vers le genre *Acinetobacter* que ces formes courtes caractérisent. Ici on se trouve en présence d'un microbe assez particulier, sans action sur le lait, réduisant les nitrates, non glucidolytique, non protéolytique.

Il existe un certain nombre de bactéries non protéolytiques de ce type, mais la plupart ont été insuffisamment décrites. Il a donc été nécessaire de faire un choix. Le seul germe non glucidolytique de ce groupe qui soit sans action acidifiante sur le lait est le *Bacterium parvulum*, décrit par CONN en 1922; isolé d'un fumier de cheval, ce microbe saprophyte du sol n'est pas indologène et réduit les nitrates. Pour éviter la création d'une espèce nouvelle, nous nous sommes arrêté à cette espèce dont on complète les caractères.

Bien entendu, l'épithète donnée par CONN ne peut convenir puisque l'on a affaire à un microbe Gram négatif. Il s'agit donc ici d'*Acinetobacter parvulum* et non de *Bacterium*.

13° *Hémoculture souillée.*

Bacille Gram négatif, non sporulé, mobile.

Se développe bien à 37° sur les milieux usuels en élaborant un beau pigment sépia rougeâtre, diffusant dans les milieux et teintant fortement la gélose.

Bouillon : trouble discret, mais voile épais, pigment brun rouge.

Une goutte de bouillon chauffée doucement sur une lame dégage une odeur aromatique rappelant la coumarine.

Milieu minéral additionné le glycérol et asparagine : culture abondante, voile en surface, pas de coloration.

Gélatine, culture en surface, pigment sépia. Pas de liquéfaction en un mois.

Nitrates non réduits en nitrites. H₂S : 0. Indole : 0.

Citrate de soude alcalinisé.

Lait tournesolé : inchangé.

Pomme de terre : culture très grêle.

Sans action sur les sucres, en particulier lactose, glucose, levulose, mannite.

Tyrosinase : + +. Très active en milieu spécial.

Utilise comme source de carbone en milieu synthétique : fumarate, aldéhyde méthylique, pétrole, éthanol.

Position taxinomique.

La sécrétion d'un pigment soluble diffusant dans les milieux de culture oriente immédiatement vers le genre *Pseudomonas*, à pigments bruns.

L'espèce décrite sous les noms de *Bacillus ferrugineus*, en 1898, par RULLMANN, et *Cellulomonas ferruginea* par BERGEY, en 1923, offre les caractères majeurs de notre germe, mais il fut très insuffisamment décrit.

Nous en avons profité là encore pour décrire avec cette souche le maximum de réactions biochimiques. Ce microbe nous a, en outre, été très utile au cours des expériences réalisées sur les tyrosinases microbiennes qui seront exposées dans un autre chapitre.

Il résulte de cette première étude que le germe en question mérite indiscutablement l'épithète *Pseudomonas ferruginea*.

14° Eau d'égouts (Cannes).

Bacille très mobile : Gram négatif, non sporulé.

Aérobie : facultatif.

Gélatine : non liquéfiée.

Gélose : colonies à centre opaque, blanc grisâtre. Pas de pigments, cultures extensives.

Bouillon : trouble, uniforme, pas de voile.

Lait : inchangé.

Nitrates : réduits en nitrites.

Indole : 0. H₂S : 0. Uréolyse : négative.

Péroxydase et catalase : négatives.

Sans action sur les glucides, nous avons essayé, en particulier : glucose, lactose, arabinose, xylose, rhamnose et glycérol.

Pas de culture sur le citrate de soude.

Position taxinomique.

On se trouve ici dans le groupe des *Achromobacter* réducteurs de nitrates non protéolytiques et non glucidolytiques.

Les espèces *sewerini* et *stutzeri*, très proches l'une de l'autre. L'aspect des cultures sur gélose pouvait faire opter pour l'espèce *cycloclastes*, très voisine, elle aussi, de *sewerini*, mais, dans l'ensemble, mieux décrite dans les ouvrages, ou, tout au moins, avec moins de discrétion...

Nous réunirons les trois espèces *sewerini*, *stutzeri*, *cycloclastes*, agile dans un même groupe pour éviter des hésitations inutiles.

Le germe décrit par SEWERIN, en 1895, ayant un indiscutable droit d'aïnesse, il suffirait d'englober les trois microbes sous le terme *Achromobacter sewerini*. C'est ce que nous proposons dans la systématique.

15° *Source station thermale.*

Bacille Gram négatif, mobile, non sporulé.

Très voisin du germe que nous venons de décrire, ce microbe rentre lui aussi dans le groupe *sewerini*-agile. L'alcalinisation du lait tournesolé, sa culture sur le citrate de soude le classent dans le type « *agile* » dont il sera question plus loin.

A cette occasion, nous avons pu montrer que ces bactéries cultivent rapidement en présence de KCN en milieu de Braun.

16° *Huîtres du bassin d'Arcachon.*

Nous avons isolé sur milieu SS une nouvelle souche de cet *Achromobacter*. Ceci nous a permis de vérifier la non alcalinisation du citrate de soude, caractère que nous proposerons pour l'identification de l'espèce *sewerini*, l'espèce *agile*, voisine, étant alcalinisante.

Les cultures sur gélose étaient visqueuses au bout de quelques jours. Le lait tournesolé conservait sa teinte et son aspect primitifs.

Dans le bouillon, se constituait un dépôt épais, visqueux. Nous avons ici affaire à une variété muqueuse (M).

Il s'agit, en somme, d'une espèce assez répandue et ubiquitaire ; on la retrouve en médecine humaine, notamment dans les urines, des pus de sinusites ou d'otites, etc.

17° *Eau, rade de Toulon.*

Bacille Gram négatif mobile, non sporulé.

Culture aisée sur les milieux usuels à la température ambiante.

Sur gélose : enduit extensif, légère teinte beige du milieu.

Bouillon trouble uniforme.

Pomme de terre : culture assez épaisse, teinte beige.

Gélatine : non liquéfiée.

Lait acidifié lentement.

Nitrates non réduits en nitrites.

Cultive sur le citrate de soude en alcalinisant.

H₂S : 0. Indole : 0. Uréolyse : 0.

Sans action sur le glucose, maltose, mannite et lactose.

Position taxinomique.

On s'oriente vers les *Achromobacter* non protéolytiques ne réduisant pas les nitrates en nitrites, non glucidolytiques.

L'acidification du lait ne cadre pas avec le groupe *Alcaligenes* et ses voisins.

Il existe, par contre, quelques espèces décrites comme n'alcalinisant pas le lait, ce sont *Achr. venenosum*, *Achr. hartlebii*, *Achr. innunctum* et *Achr. cruciviae*. Toutes ces espèces sont insuffisamment décrites.

L'action sur le lait est cependant précisée dans quelques cas. L'espèce *innunctum* est sans effet.

L'espèce *hartlebii* forme un voile épais sur le bouillon; d'*Achr. cruciviae*, on ne sait rien de précis sinon qu'il attaque le phénol et le métacrésol. Ce qui n'a rien de très singulier pour une *Pseudomonadaceae*.

Nous avons arrêté notre choix à l'espèce *venenosum* signalée comme produisant une légère teinte brune sur les géloses, ce qui était précisément le cas ici.

Nous pouvons donc ajouter aux caractères décrits jusqu'ici : l'alcalinisation du citrate de soude, l'absence d'uréolyse, la non-production d'indole, ou de H₂S.

Ce germe, isolé pour la première fois par VAGHAM, en 1892, ne semble pas avoir été l'objet de description nouvelle depuis cette époque.

18° *Eau, rade de Toulon.*

Il s'agissait, là encore, d'un bacille Gram négatif mobile.

Cultivant aisément sur gélose et bouillon. Voile léger sur ce dernier milieu. Pas de pigments.

Gélatine non liquéfiée.

Culture sur citrate de soude : négative.

H₂S : 0. Indole : 0. Uréolyse : négative.

Nitrates non réduits en nitrites.

Cultive mal sur pomme de terre : simple enduit mince brun clair.

Fermente sans gaz et légèrement le glucose et la mannite.

Position taxinomique.

Il s'agit, là encore, d'un *Achromobacter*. L'ensemble des caractères observés ne se trouve chez aucune espèce décrite jusqu'ici, mais le germe isolé, en 1928, par GRAY et THORTON et décrit dans le « Bergey's Manual » sous le nom d'*Achromobacter arvillum* s'en rapproche assez.

Nous complétons donc la description de cette espèce en précisant qu'elle acidifie la mannite lentement, qu'elle ne donne ni indole, ni H₂S, et qu'elle n'hydrolyse pas l'urée.

Enfin, que sa culture sur pomme de terre est lente.

Le germe de GRAY et THORTON fut isolé du sol. Il faut admettre qu'il en existe des espèces viables dans le milieu marin.

18 bis. Nous avons l'occasion d'isoler une seconde souche du même germe à Toulon, et de préciser, cette fois, la lente peptonisation du lait tournesolé sans acidification ni alcalinisation préalables.

19° *Eau, rade de Toulon.*

Bacille Gram négatif mobile.

Cultures faciles à la température ordinaire.

Gélose : colonies blanches, puis jaune franc.

Bouillon trouble avec voile léger en surface.

Pomme de terre : culture en quarante-huit heures, jaune franc puis jaune sombre.

Gélatine liquéfiée.

H₂S : 0. Uréolyse : 0. Indole : 0.

Culture sur le citrate de soude négative.

Nitrates non réduits en nitrites.

Acidifie sans gaz : glucose et mannite, sans action sur le lactose.

Position taxinomique.

Ce germe présentait les caractères majeurs de *Flavobacterium marinum*.

Nous avons précisé le comportement sur l'urée, le citrate de soude, la non-production d'indole.

Une autre souche identique fut isolée d'un autre prélèvement d'eau de mer.

20° *Eau, rade de Toulon.*

Bacille Gram négatif isolé sur milieu SS salé.

Mobile, non capsulé, non sporulé.

Cultures aisées sur les milieux usuels.

Bouillon : voile en surface.

Gélose : enduit jaune pâle.

Pomme de terre : vers la quarante-huitième heure, enduit d'un beau jaune d'or.

Gélatine liquéfiée.

H₂S : 0. Indole : 0. Nitrates réduits en nitrites.

Lait : acidification lente vers la quarante-huitième heure.

Citrate de soude alcalinisé.

Uréolyse négative.

Acidifie sans gaz : glucose et, très lentement et tardivement, le lactose.

Position taxinomique.

La sécrétion de pigment jaune oriente immédiatement vers les *Chromobactereae*, la mobilité impose le genre *Flavobacterium*. On peut hésiter entre les espèces *Fl. biazotea* et *Fl. aurogenes*, espèces très proches, du reste, l'une de l'autre.

Nous avons opté pour la première espèce et complété les caractères biochimiques qui permettent maintenant un diagnostic plus précis.

21° Eau, rade de Toulon.

Petit bacille Gram négatif immobile, purifié sur gélose SS.

Pousse bien à la température ordinaire.

Gélose : colonies grisâtres ou bleuâtres, lisses.

Bouillon trouble uniforme.

Culture aérobique préférentielle.

Lait tournesolé inchangé.

Pomme de terre : culture très grêle et tardive.

Nitrates non réduits en nitrites. Indole : 0. H₂S : 0.

Gélatine non liquéfiée au quinzième jour.

Acidification lente du glucose sans gaz.

Sans action sur la mannite, lactose, saccharose, levulose.

Uréolyse : 0. Ne cultive pas sur le citrate de soude.

Position taxinomique.

Ce germe immobile, non chromogène, est un *Acinetobacter*.

Les caractères majeurs sont ceux de l'espèce *eurydice*, classiquement connu sous le nom d'*Achromobacter eurydice* (WHITE) « Bergey et all. ».

Cette espèce est donnée comme élaborant parfois H₂S en petite quantité. Le fait que notre souche ne produisait pas ce gaz ne peut faire écarter le diagnostic posé.

On peut considérer *Acinetobacter eurydice* comme faiblement producteur de H₂S ou variable.

Là encore, nous avons complété la description en ajoutant le comportement sur l'urée, le citrate, et avons étudié l'action sur plusieurs sucres.

Notons enfin que le germe cultive fort bien sur le milieu SS.

22° *Eau de mer, Toulon.*

Bâtonnets courts immobiles, Gram négatif.

Culture sur SS qui permet de purifier la souche.

Gélose : enduit butyreux. Pas de pigment.

Gélatine : liquéfaction lente, une dizaine de jours, formation d'un voile à la surface du milieu.

Bouillon : voile, trouble discret du milieu.

Lait tournesolé : réaction alcaline.

Pomme de terre : culture lente et mince, chamois brun.

Citrate de soude : alcalinisation.

H₂S : 0. Uréolyse : 0. Indole : 0. Réaction des nitrites : ++.

Acidifie sans gaz : glucose. Sans action sur les autres sucres courants, notamment le lactose, maltose, saccharose, amidon, mannite.

Position taxinomique.

ZOBELL et UPHAM, en 1944, ont décrit un germe très voisin auquel ils ont donné le nom d'*Achromobacter stationis*. Ce germe provenait d'animaux marins.

Nous nous arrêtons à ce diagnostic en soulignant l'alcalinisation du citrate de soude pour notre souche. Le seul caractère particulier est ici la lente culture sur pomme de terre, propriété manquant à la souche des auteurs américains.

Enfin, le bacille étant immobile reçoit le nom d'*Acinetobacter stationis*.

23° Eau, petite rade Toulon.

Bacille mobile Gram négatif, non sporulé.

Isolé sur milieu SS (colonies noires).

Gélose : cultures d'un beau jaune vif allant sur l'orangé.

Bouillon : trouble, voile jaune en surface.

Pomme de terre : enduit orangé, puis marron.

Gélatine : pas de liquéfaction.

Fermente sans gaz : glucose, levulose, galactose, maltose.

Sans action sur le lactose, mannitol.

Indole : 0. H₂S : + +. Nitrites ; +.

Uréolyse : 0. Culture sur le citrate de soude : 0.

Position taxinomique.

Ce *Flavobacterium* évident présente les caractères essentiels de *Fl. aurantium* (HAMMER) « Bergey et all. ».

HAMMER l'avait isolé du lait.

Nous en complétons les caractères biochimiques en précisant la production d' H₂S par notre souche, l'absence d'uréolyse et culture sur citrate de soude.

Le pigment peut foncer et prendre une teinte orange.

24° Huîtres bassin Arcachon.

Bacille très court, formes coccoïdes, immobile Gram négatif.

Culture aisée sur les milieux usuels.

Gélatine liquéfiée en quarante-huit heures.

Bouillon troublé sans voile.

Culture rapide sur citrate de soude.

Nitrates non réduits en nitrites.

H₂S : 0. Indole : 0.

Uréolyse : 0. Lait lentement acidifié et peptonisé en huit jours.

Acidifie sans gaz : glucose, lactose (en 8 jours).

Position taxinomique.

A l'époque où nous avons isolé ce microbe, nous le rapprochions de l'espèce *Achromobacter butyri* dont il offrait un certain nombre de caractères. Toutefois, la coagulation du lait, l'absence d'odeur aromatique butyrique, la lente acidification du lactose s'opposaient à reconnaître dans la souche étudiée un *Achr. butyri* caractéristique.

Des travaux plus récents et, en particulier, la description par BILLING d'un *Achromobacter anitratum*, variété *saponiphilum* acidifiant le lait, fermentant le lactose, permet de classer correctement notre germe et de lui donner l'étiquette *Acinetobacter saponiphilum* que nous avons attribuée, en 1956, au germe de BILLING. En effet, l'immobilité des souches ne permet plus de les considérer comme des *Achromobacter*.

Nous avons donc isolé une variété maritime halophile d'*Acinetobacter saponiphilum*. Rappelons que BILLING avait isolé son microbe d'une éponge imprégnée d'eau savonneuse. Nous retrouverons, du reste, un germe identique en clinique humaine (n° 55).

25° Eau de la rade de Cannes.

Bacille mobile. Isolé sur milieu SS-Gram négatif.

Cultures extensives sur gélose. Pas de pigments, cultive bien à 28°.

Bouillon : trouble, uniforme.

Lait : pas de modification.

Gélatine : non liquéfiée.

Ne cultive pas sur le citrate de soude.

Indole : 0. H₂S : 0. Uréolyse : négative.

Nitrates réduits en nitrites.

Réaction au rouge de méthyle : négative.

Sans action sur le lactose, glucose, arabinose et xylose.

Position taxinomique.

Nous avons encore ici affaire à un *Achromobacter* non protéolytique, sans action sur les sucres, réducteur de nitrates. Ceci nous conduit au groupe *Severini stutzeri agile* dont la révision s'impose. Le présent germe n'étant pas alcalinisant, il s'agit de l'espèce « *Sewerini* ».

26° Rade de Cannes.

Bacille mobile. Gram négatif, non sporulé.

Culture aisée sur tous les milieux, y compris les milieux à l'eau douce.

Gélose : enduit vernissé. Blanc sale. Pas de pigmentation.

Bouillon : trouble, homogène. Lait alcalinisé.

Gélatine : pas de liquéfaction.

Biochimie négative; sans action sur les sucres, les nitrates, le citrate de soude. Uréolyse : négative. Ni indole, ni H₂S.

Rouge de méthyle : négatif.

Position taxinomique.

On reconnaît là les caractères essentiels du classique *Alcaligenes fecalis* de PÉTRUSCHKY, que nous appelons maintenant *Achromobacter alcaligenes*.

Nous reviendrons sur le cas de ce germe dans un des chapitres suivants.

Nous avons eu l'occasion d'isoler une souche très proche, mais alcalinisant le citrate de soude. Il faut considérer ce caractère comme mineur et voir dans ce germe une simple variété.

27° *Rade de Cannes.*

Bacille très mobile, Gram négatif. Bâtonnets droits, non sporulés, par de formes incurvées, ce qui élimine la possibilité de vibrions.

Gélose : enduits grisâtres, vernissés. Vague teinte jaune très pâle dans les cultures âgées de plusieurs semaines.

Bouillon : trouble, homogène, avec voile léger.

Lait alcalinisé. Gélatine : pas de liquéfaction.

Biochimie : H₂S : + +. Indole : 0.

Sans action sur les sucres.

Réaction au rouge de méthyle : négative. Uréolyse : 0.

Nitrates non réduits en nitrites. Ne cultive pas sur le citrate de soude.

Position taxinomique.

Le caractère important chez cette espèce non protéolytique dénuée d'action sur les sucres et les nitrates, reste la production de H₂S. Nous avons affaire à une espèce connue sous le nom de *Bacillus mariense* (KLIMENKO), *Alcaligenes fecalis*, variété *mariense* (HAUDUROY), que nous appelons *Achromobacter alcaligenes*, variété *mariense* ou *Achromobacter mariense*.

Pour la facilité des déterminations, il est préférable de lui conserver le rang d'espèce.

28° *Moules de Charente-Maritime.*

Isolément sur gélose SS à l'eau de mer. Bacille Gram négatif court, immobile, non scapulé, pas de spores.

Cultures aisées sur les milieux à l'eau douce.

Gélose : enduit épais, vernissé. Pas de pigment.

Bouillon : trouble, homogène.

Dans les cultures, nombreuses formes coccoïdes, ou en navette, très courtes.

Cultive sur les milieux synthétiques et médiocrement sur pomme de terre.

Biochimie réduite ; sans action sur les sucres, les nitrates, la gélatine, le citrate de soude, l'urée. Le lait n'est pas modifié. Ni indole, ni H₂S.

Position taxinomique.

Ce germe appartient à ce que certains auteurs nomment *Mimeae* (de BORD), ou *Moraxella* (D. et M. PIÉCHAUD) dont il sera discuté plus loin. Pour nous, il s'agit d'un *Acinetobacter*, parce que immobile et achromogène. En l'occurrence, nous avons affaire à l'espèce *Acinetobacter lwoffii*.

La découverte de cette espèce dans des coquillages constituera plus loin un argument de choix pour soutenir la thèse de l'ubiquité de ces espèces qui n'ont rien à voir avec les *Moraxella* que nous voudrions réduire aux seules espèces sérophiles ou hémophiles obligatoires.

29° Coquillages (Cannes).

Isolé sur SS. Bacille mobile, Gram négatif. Non sporulé. Pas de capsules.

Cultures aisées sur tous les milieux. Pas de pigments.

Gélatine : liquéfiée. Dépôt grisâtre après la digestion du milieu. La protéolyse est très rapide.

Lait lentement acidifié, peptonisation.

Gélose : enduits épais, luisants.

Biochimie : uréolyse négative.

H₂S : +. Indole : 0. Ne cultive pas sur le citrate de soude. Nitrates réduits en nitrites.

Fermente sans gaz : le glucose, le lactose et le galactose.

Position taxinomique.

Ce germe est identique à celui que nous avons déjà étudié au n° 11 et que nous avons isolé d'une eau minérale. Il s'agit de l'espèce *Achromobacter delicatulum*, que nous avons encore eu l'occasion de rencontrer à plusieurs reprises, même en médecine humaine.

30° *Huîtres du bassin d'Arcachon.*

Isolement sur gélose SS d'un bacille mobile, Gram négatif. Mobilité extrême.

Cultures : gélose, enduit vernissé, extensif. Reflets métalliques. Pas de pigmentation.

Cultive mieux à 18°-20° qu'à l'étuve à 37°.

Gélatine : liquéfaction rapide, apparition d'une belle fluorescence jaune vert.

Citrate de soude : culture rapide avec alcalinisation.

Lait : lente acidification. Digestion. Odeur aromatique.

Nitrates réduits en nitrites.

Indole : 0. H₂S : 0. Uréolyse : négative.

Sans action sur le lactose, saccharose, levulose, maltose et glucose. Cependant, ce dernier sucre fut fermenté vers le dixième jour.

Position taxinomique.

L'apparition d'un pigment jaune fluorescent nous dirige immédiatement vers le genre *Pseudomonas*.

Les *Pseudomonas* cultivant mal à 37°, protéolytiques, faiblement ou non glucidolytiques, producteurs de nitrites, sont dans l'ensemble assez mal décrits.

Les espèces les mieux connues sont : *Ps. myxogenes*, qui est indologène ; *Ps. chloraphis*, producteurs de cristaux de chlororaphine, verts caractéristiques ; *Ps. septica*, alcalinisant le lait ; *Ps. boreopolis*, très insuffisamment décrit (GRAY et THORTON,

1928) ; *Ps. chlorina* indologène, *Ps. fluorescens* qui, classiquement, alcalinise le lait.

Nous avons donc ici le choix entre les espèces *boreopolis*, *fluorescens* ou *chlororaphis*. Cette dernière espèce fut exclue en raison de la non-production de cristaux de chlororaphine. Notre souche acidifiait le lait tournesolé. Ceci ne correspond pas aux descriptions classiques des espèces citées, qui sont, au contraire, alcalinisantes.

Une autre souche très voisine fut isolée de moules provenant de la Charente-Maritime.

Une troisième fluorescente fut isolée d'un lait de vache.

Ces bactéries fluorescentes sont fréquentes, mais difficiles à classer. On se trouvera, là encore, dans l'obligation d'en reconstituer un groupe dont il sera discuté plus loin (chap. III).

31° Moules de Charente-Maritime.

Germe isolé sur milieu SS. Gram négatif. Très court. Immobile.

Culture aisée. Enduits grisâtres sur la gélose. Ces enduits deviennent butyreux. Pas de pigments.

Bouillon : trouble, modéré.

Cultive assez mal en bouillon glucosé.

Lait : pas de modification.

Gélatine : lentement liquéfiée.

H₂S : 0. Indole : 0. Nitrates réduits en nitrites.

Pomme de terre : pas de culture.

Uréolyse : négative. Sans aucune action sur les sucres en milieu peptoné.

Nous retrouvons là un germe décrit, en 1944, par ZOBELL et UPHAM sous le nom de *Achromobacter stenohalis*. Nous avons pu vérifier l'immobilité de l'espèce qui mérite alors le nom d'*Acinetobacter stenohalis*.

Il faut noter que notre souche cultivait fort bien dans les milieux à l'eau douce, alors que celle de ZOBELL et UPHAM exigeait des milieux salés.

32° *Moules (Charente-Maritime).*

Bacille mobile, Gram négatif.

Culture aisée sur tous les milieux. Enduits muqueux sur la gélose. Pas de pigments.

Lait légèrement alcalinisé.

Indole : 0. H₂S : 0. Nitrates réduits en nitrites.

Culture sur citrate de soude alcaline.

Action nulle sur les sucres. Ni gaz ni acides.

Gélatine non liquéfiée.

Position taxinomique.

Nous retrouvons encore ici le groupe des *Achromobacter* non protéolytiques, réducteurs de nitrates, sans action sur les glucides. L'espèce alcalinisant le citrate et le lait correspond au type *Achr. agile*.

Nous avons ici affaire à une variété M (muqueuse).

Une seconde souche identique fut isolée de l'eau de mer à Cannes.

33° *Eau, rade de Toulon.*

Bacille Gram négatif, mobile, protéiforme.

Colonies blanc jaunâtre sur gélose, puis jaune clair.

Bouillon : trouble uniforme.

Pomme de terre : culture peu épaisse, mais d'un beau jaune d'or.

Gélatine : liquéfiée.

H₂S : 0. Indole : 0. Uréolyse : négative. Nitrites : +.

Citrate de soude : alcalinisé.

Lait inchangé à la soixante-douzième heure. puis lentement acidifié.

Sucres fermentées sans gaz : glucose, mannite, arabinose, rhamnose, xylose, maltose.

Sans action sur le lactose, inositol et dulcitol.

Catalase : +.

Position taxinomique.

On se trouve ici de toute évidence en présence d'un *Flavobacterium*. Espèce protéolytique, glucidolytique.

Dans le groupe des germes ne donnant ni indole, ni H₂S. comme notre souche. on ne trouve aucune espèce acidifiant le lait tout en présentant les mêmes caractères fermentatifs. En se reportant dans le groupe des espèces non indologènes avec H₂S variable, on trouve *Flav. typhi*, le seul, du reste, acidifiant lentement le lait.

Le germe isolé était donc une variété non productrice d'H₂S de *Fl. typhi*.

L'action de ce microbe sur le nitrate de soude et l'urée étaient, du reste, inconnues; nous pouvons combler cette lacune.

34° *L a i t.*

Bacille mobile Gram négatif, non sporulé.

Culture aisée entre 18° et 20°. Ne cultive plus à 37°.

Enduits vernissés, muqueux, visqueux dans les vieilles cultures. Belle fluorescence jaune apparaissant sur la gélose dès le troisième jour de culture. Pas d'odeur spéciale.

Bouillon : trouble, uniforme, pas de voile. Légère fluorescence jaune.

Milieu synthétique à l'asparagine-glycérine : culture rapide en trente-quatre heures.

Gélatine : liquéfaction en trois jours. Pas de pigments.

Lait coagulé.

Citrate non alcalinisé.

Uréolyse : négative. Indole : 0. H₂S : 0.

Nitrates non réduits en nitrites.

Cultive sur milieu synthétique avec le tryptophane, ou la cystrine comme seules sources de carbone.

Position taxinomique.

Il y a une douzaine environ de *Pseudomonas* (pigments fluorescents) cultivant mal à 37°, non réducteurs de nitrates. Parmi ceux-ci, un seul est connu comme coagulant le lait, c'est l'espèce *Schuytkillensis* de CHESTER (1901), isolé il y a plus de cinquante ans de *Schuytkill River*.

Nous pouvons compléter les caractères biochimiques de cette espèce dont il faut rapprocher notre germe.

Précisons, en particulier, l'alcalinisation des milieux sucrés, l'absence de pouvoir uréolytique, la culture en présence de KNC, la non-liquéfaction du sérum coagulé. L'espèce-type est donnée comme produisant des traces d'indole. Notre souche n'en élaborait pas. C'est là une différence mineure. Ce caractère peut dépendre de la qualité des peptones employées. Les préparations mises à la disposition des bactériologues en 1900 n'avaient peut-être pas la pureté des produits actuels. Nous ne faisons usage que de peptones garanties exemptes d'indole. Il faut donc considérer la souche que nous venons de décrire comme un spécimen de *Pseudomonas schuytkillensis*.

35° Eau ferrugineuse (*La Bauche, Savoie*).

De cette eau, nous avons isolé sur milieu gélose-gélatine un germe immobile, Gram négatif, non sporulé.

Cultures aisées sur les milieux habituels.

En milieu appauvri en K (milieu de LWOFF et IONESCO), apparition de formes filamenteuses.

Aérobiose préférentielle.

Gélatine : pas de liquéfaction.

Pomme de terre : nappe uniforme, pas de pigment.

Sérum coagulé : pas de digestion du milieu. Enduit blanc sale.

Lait acidifié. Lentement coagulé.

Indole : 0. H₂S : 0. Nitrates : non réduits en nitrites.

Uréolyse : négative. Oxydases : négatives.

Sans action sur le d-tartrate et le mucate de Na. Alcalinise le citrate de soude.

Acidification sans gaz du glucose, arabinose, rhamnose et, lentement, du lactose. Sans action sur les autres sucres.

Position taxinomique.

Cette bactérie non chromogène, immobile, entre dans le groupe des *Acinetobacter* (ex-*Mimae*, ex-*Moraxella*).

Nous nous trouvions ici en présence d'une authentique souche d'*Acinetobacter anitratum*, connu, par ailleurs, sous les noms de *Bacterium anitratum*, BW 25, *Moraxella lwoffii*, variété *glucidolytica*, etc., dont il sera plus loin discuté.

Cette observation montre bien encore que tels germes sont très répandus dans la nature. Cette souche a été isolée en fin d'hiver (mars) d'une source ferrugineuse désaffectée, éloignée de tout contact humain.

36° et 37°.

Deux souches de *Flavobacterium hydrophilum* provenant, l'une d'une épizootie de grenouilles, l'autre d'une épizootie de carpes, ont été étudiées, mais feront prochainement l'objet de travaux que nous ne pouvons rapporter ici, les auteurs qui nous ont adressé les souches devant, eux aussi, publier les recherches auxquelles nous voulons garantir la priorité.

Disons seulement : que nous avons pu confirmer l'épithète « *Flavobacterium* » pour cette espèce *hydrophilum*, encore diversement interprétée (*Pseudomonas*, *Proteus*, etc.) et que des

recherches sérologiques sur deux souches biochimiquement voisines montrent qu'il y a plusieurs types antigéniques.

38° *Urétrite chronique chez l'homme.*

Germe mobile, non sporulé, non capsulé Gram négatif.

Culture aisée et abondante sur les milieux usuels.

Colonies grasses, épaisses, sur gélose.

Gélatine non liquéfiée. Indole et H₂S : 0.

Lait tournesolé inchangé.

Aucune attaque des sucres. Uréolyse : 0.

Nitrates rapidement réduits en nitrites.

Catalase : +. Peroxydase : 0. Citrate : acide.

Agglutination.

Sérum anti-iophagum : 0.

Sérum anti-anitratum : 0.

Position taxinomique.

Germe mobile, non chromogène, non glucodolytique; on est orienté vers le genre *Achromobacteur*.

On retrouve ici le groupe *Sewerini*, *stutzeri*, *cycloclastes* dont nous avons déjà parlé et dont il sera fait une étude synthétique dans le chapitre suivant. L'action sur le citrate diffère ici du type classique.

39° *Urine aseptique et selle chez le même sujet.*

Germe mobile non sporulé, non capsulé, Gram négatif.

Cultures abondantes sur les milieux usuels.

Enduit épais sur pomme de terre.

Odeur de morue dans les cultures.

Gélatine : 0. Pas de liquéfaction. Indole : +. H₂S : +.

Uréolyse : 0.

Lait tournesolé réduit.

Fermente sans gaz : arabinose, galactose, glucose, mannitol.

Sans action sur le xylose et lactose.

Cultive en milieu hypersalé à 30 %.

Nitrates réduits en nitrites. Amidon rapidement hydrolysé.

Position taxinomique.

Au premier abord, on pouvait être orienté vers une entérobactérie lactose négatif n'attaquant pas l'urée, du groupe *Providencia*, mais certains caractères s'opposent à ce diagnostic : l'absence de gaz (caractère mineur, il peut manquer, nous le savons, chez certaines souches de *Providencia*), mais attaque de la mannite et de l'amidon, l'abondante production de H₂S, la fermentation de l'arabinose.

On se reporte donc dans le genre *Achromobacter*. Il s'agit, ici encore, de l'espèce « *Pinatum* » dont on a déjà parlé.

Il est intéressant de noter la présence de cette bactérie en pathologie humaine, et de rencontrer dans des produits pathologiques une espèce halophile, cultivant en présence d'une forte concentration de NaCl.

40° Sinusite chronique. Pus de ponction.

Germe mobile Gram négatif, asporulé, pas de capsule.

Cultive sur les milieux usuels à la température ambiante.

Sur gélose : colonies gris blanchâtre, assez épaisses, pas de pigments. Bouillon uniformément troublé.

Gélatine liquéfiée.

H₂S : +. Uréolyse : négative. Indole : 0.

Lait tournesolé inchangé.

Action sur les sucres très faible. Seul le glucose est acidifié sans gaz en quinze jours.

Les nitrates ne sont pas réduits en nitrites.

Alcalinise le citrate de soude. Cultive bien sur pomme de terre.

Position taxinomique.

L'absence de réduction des nitrates en nitrites permet d'éliminer immédiatement l'hypothèse d'une entérobactérie.

Seul, ici encore, le genre *Achromobacter* peut convenir. Nous sommes dans le groupe des gélatinolytiques non réducteurs de nitrates.

La seule espèce productrice de H₂S non glucidolytique ou très faiblement glucidolytique est *Achromobacter liquefaciens*. Ce germe se serait montré une fois pathogène pour le lapin, chez qui il peut entraîner la formation d'abcès sous-aponévrotiques.

Malgré l'attaque tardive du glucose, il faut s'arrêter à ce diagnostic.

De tels germes, et nous aurons l'occasion d'y revenir, ont été confondus avec des alcaligènes ou qualifiés de *Moraxella* protéolytiques.

Nous avons ici complété les caractères classiques de ce germe et montré son inaction sur plusieurs sucres, l'absence d'uréolyse, et indiqué qu'il alcalinisait le citrate de soude. Notions importantes pour établir le diagnostic.

41° *Sinusite chronique. Pus de ponction.*

Germe mobile Gram négatif.

Cultivant bien sur les milieux usuels à la température ordinaire à 22°.

Bonnes cultures sur la pomme de terre.

Gélatine liquéfiée.

Indole : 0. H₂S : 0. Uréolyse : négative. Ne pousse pas sur le citrate de soude.

Lait tournesolé inchangé.

Ne fermente aucun sucre.

Nitrates non réduits en nitrites.

Péroxydase : 0. Catalase : +.

Position taxinomique.

Ce germe est, lui aussi, un *Achromobacter* non réducteur de nitrates, mais il ne donne pas de H_2S et reste absolument sans action sur les sucres, même après observation prolongée.

Les *Achromobacter* gélatinolytiques ne réduisant pas les nitrates et n'attaquant pas les sucres, non producteurs d'indole ni de H_2S , sont assez nombreux. Ils se différencient par leur action sur le lait tournesolé, les uns acidifient ce milieu, d'autres l'alcalinisent, certains, enfin, le laissent intact.

Les deux seuls germes possédant ce dernier caractère sont *Achr. gasoformans*, d'EINSENBURG, très mal décrit dans les traités. l'autre, *Achr. stoloniferum*, dont on connaît un peu plus de propriétés. Nous avons eu l'occasion d'en étudier plusieurs souches et de constater son inactivité sur le citrate de soude, sa culture abondante sur milieu de BRAUN au KCN. Pour cette raison, nous avons étiqueté le germe de cette sinusite *Achr. stoloniferum*.

On se trouve, là encore, en présence d'une bactérie dite « bactérie saprophyte des eaux » isolée d'un produit provenant d'une affection humaine.

Ces résultats expérimentaux apporteront des arguments de poids à la position que nous soutiendrons dans le chapitre suivant en étudiant le genre *Alcaligenes* et les *Moraxella*.

42° Souche provenant d'une angine.

Bacille Gram négatif, mobile, mouvements oscillatoires.

Gélose : culture extensive, épaisse, butyreuse. Pas de pigments.

Gélatine liquéfiée en trois jours.

Bouillon : trouble, uniforme. Pas de voile en surface.

Pomme de terre : culture très grêle, à peine visible au dixième jour.

Lait tournesolé : légère acidification, puis coagulation au dixième jour.

Biochimie : H₂S : 0. Nitrates réduits en nitrites. Indole : 0.

Catalase : 0. Citrate de soude : pas de culture.

Lactose acidifié en vingt-quatre heures puis alcalinisé; pas de gaz.

Acidification stable du glucose, mannite, maltose et levulose. Lente du glycérol. L'inositol n'est pas fermenté.

Culture sur KCN : positive.

Uréolyse : négative.

Sérum coagulé : enduit discret, incolore. Pas d'attaque du milieu.

Position taxinomique.

Nous sommes ici en présence d'une bactérie protéolytique du genre *Achromobacter*, puisque mobile et achromogène.

On peut encore porter ici le diagnostic d'*Achromobacter delicatulum*.

43° Eau de puits (Vienne).

Bacille Gram négatif, mobile, non sporulé.

Culture aisée à 20°, impossible à 37°.

Gélose : enduits épais, extensifs, vernissés, reflets métalliques, belle fluorescence jaune. L'enduit microbien devient rapidement visqueux.

Gélatine : totalement liquéfiée au sixième jour, pas de pigments.

Lait tournesolé : acidifié, peptonisation sans coagulation.

Cultive sur le KCN.

Les sucres tels que lactose, glucose, maltose sont alcalinisés.

Uréolyse : négative. H₂S : 0. Indole : 0.

Sérum coagulé : culture maigre. Pas d'attaque du milieu.

Ne cultive pas sur le citrate de soude.

Nitrites : réaction très fugace.

Utilise la cystéine, le tryptophane, le glucose en milieu minéral. N'utilise pas le succinate, ni la tyrosine.

Position taxinomique.

Le classique *Pseudomonas fluorescens* acidifie le glucose, alcalinise le lait et donne une réaction des nitrites stables ; en outre, il liquéfie le sérum coagulé.

Notre germe est bien un *Pseudomonas* puisque producteur de pigment fluorescent, mais ce n'est pas un *Ps. fluorescens*.

Les espèces *pavonacea*, *effusa*, *reptilovorans*, *syncyanea*, *terrestralginum* alcalinisent le lait et sont indologènes.

La bactérie isolée se rapproche, par contre, de *Pseud. schuytkillensis* que nous avons déjà isolée du lait (n° 34). Parmi les *Pseudomonas* ne cultivant pas à 37°, cette espèce est, nous l'avons déjà souligné, la seule à coaguler le lait et à le digérer.

44° *Boue de la Charente (souche Ménantaud).*

Germe très court, coccoïde, immobile, aspect neissériforme. Parfois bâtonnets trapus. Gram négatif.

Cultures aisées sur tous les milieux, abondantes même à la température ambiante.

Enduits brillants, épais, gluants, visqueux sur gélose.

Pas d'attaque du milieu.

Bouillon : trouble. Pas de voile, mais développement plus abondant en surface. Ni pigments, ni gaz.

Lait tournesolé : pas de modifications.

Gélatine : pas de liquéfaction.

H₂S : 0. Indole : 0. Citrate de soude : culture positive.

KCN : pas de culture. Uréolyse négative.

Nitrates non réduits en nitrites. Sérum coagulé : non liquéfié.

Glucose : acidifié sans gaz.

Sans action sur le lactose, mannite, levulose, maltose, inositol. Le glycérol est lentement acidifié.

Position taxinomique.

Nous nous trouvions, là encore, en présence d'un *Acinetobacter*, bactérie achromogène, courte, connue ailleurs sous le de *Mima polymorpha* (de BORD).

Il s'agit donc d'*Acinetobacter polymorpha*.

45° *Crachat purulent.*

Bacille assez mobile, tourbillonnant sur lui-même, Gram négatif. Obtenu en culture pure sur le milieu de KRISTENSEN-KAUFFMANN. Colonies rouges (lactose négatif).

Sur gélose : enduit extensif, luisant, humide.

Bouillon : trouble, uniforme. Dépôt vers le cinquième jour.

Aérobiose préférentielle, les cultures sont plus denses en surface. Pas de pigments.

Gélatine : pas de liquéfaction au quinzième jour.

Milieu minéral : +. Cystéine : culture assez riche.

Nitrates réduits en nitrites.

Uréolyse : 0. H₂S : +. Indole : 0. KCN : culture positive.

Citrate de soude : pas de culture.

Sans action sur le glucose, lactose, glycérol, mannite, inositol, levulose et maltose.

La méthionine, acide oxalique, succinique, la diphénylamine ne peuvent servir de sources de carbone en milieu synthétique. On se trouve, là encore, en présence d'un *Achromobacter* appartenant au groupe *sewerini* qui sera étudié plus loin.

46° *Poisson d'aquarium.*

Hémoculture du sang du cœur pratiquée sur le poisson agonisant. On isole un bacille Gram négatif, mobile, cultivant aisément à 18°.

Gélose : enduit abondant, extensif, épais.

Bouillon : trouble, homogène.

Gélatine : liquéfaction en deux jours.

Uréolyse : 0. H₂S : 0. Indole : 0. Nitrates réduits en nitrites.

Citrate de soude : pas de culture.

Lait acidifié : culture en présence de KCN.

Acidification sans gaz du glucose, lactose, saccharose, maltose, mannite, galactose, levulose.

Sans action sur le xylose, arabinose. Le glycérol est lentement attaqué.

Culture normale en milieu synthétique à l'asparagine-glycérine.

Position taxinomique.

Ce germe non chromogène, mobile, est de toute évidence un *Achromobacter*. Protéolytique, glucidolytique, il correspond à l'espèce *delicatulum*.

47° Pus urinaire.

Bacille Gram négatif, extrémités effilées, immobile.

Odeur aromatique rappelant les pommes dans toutes les cultures.

Gélose : enduit jaune clair, lisse.

Gélatine : liquéfaction très lente (quinze jours).

Bouillon : trouble, avec ondes moirées.

Sérum coagulé : enduit jaune paille. Le milieu est lentement attaqué.

KCN : culture rapide. Le citrate de soude est acidifié.

Uréolyse : 0. Nitrates : non réduits en nitrites.

H₂S : +. Indole : 0. Péroxydases : ++. Les sucres sont alcalinisés, à l'exception du glucose qui est lentement acidifié.

Longévité de cinq mois en cultures et à la température ordinaire.

Position taxinomique.

L'immobilité du germe, la sécrétion d'un pigment jaune clair orientent vers la tribu des *Chromobactereae*, genre *Empe-dobacter*. Il s'agit ici de l'espèce *Esteroaromaticum*, classiquement décrite sous le nom de *Flavobacterium esteroaromaticum*, dont nous avons pu ainsi compléter la description.

Notre germe se montra sensible au chloramphénicol, néomycine, viomycine et soframycine.

48° Cavité orbitaire infectée.

Bacille Gram négatif, mobile.

Cultures abondantes, muqueuses sur gélose. Pas de pigments.

Bouillon : trouble, homogène. Dépôt épais au bout de quelques jours. Voile léger en surface.

Pomme de terre : culture assez riche, couleur abricot clair.

Milieu minéral : +. Glycérine et asparagine : voile en surface, trouble homogène au-dessous.

Sérum coagulé : culture grêle. Pas d'attaque du milieu.

Gélatine : liquéfiée.

Lait : pas de modifications.

Sans action sur le glucose, mannitol, saccharose, galactose, maltose, arabinose, xylose, glycérol, lactose.

Nitrates : non réduits en nitrites. H₂S : 0. Indole : 0. Uréolyse : 0.

Ne cultive pas sur le citrate de soude.

Une culture de dix-huit heures en bouillon tue la souris blanche inoculée par voie péritonéale. La mort survient en soixante-douze heures.

Position taxinomique.

Il s'agit, ici encore, d'un *Achromobacter* appartenant à l'espèce *stoloniferum*.

Ce germe était très pathogène pour l'animal. Il se montra sensible au chloramphénicol et à l'auroéomycine. Avec le premier médicament, on obtint rapidement la guérison du malade.

49° *Huîtres de Fouras (Charente-Maritime).*

Bacille Gram négatif, mobile.

Cultures aisées sur les milieux usuels à la température du laboratoire.

Gélose : enduit vernissé d'un beau rouge corail.

Bouillon : culture rapide, teinte rose vers le quatrième jour. Voile rose en surface.

Gélatine : liquéfiée. Teinte rose diffuse.

Pomme de terre : bel enduit brillant, rouge corail.

Sérum coagulé : milieu digéré, odeur désagréable, teinte rouge foncé du milieu.

Lait tournesolé acidifié.

Lait au bleu de méthylène à 1 % : pas de culture.

Citrate de soude alcalinisé.

Milieu minéral : +. Asparagine et glycérol : culture rapide, beau pigment rose vif.

KCN : culture positive, la chromogénèse n'est pas inhibée.

Indole : 0. Uréolyse : 0. H₂S : 0. Péroxydases : + +. Rouge de méthyle : teinte jaune.

Attaque sans gaz : glucose, lactose, levulose, mannite, saccharose. Sans action sur le xylose, arabinose, galactose, maltose.

Le pigment rouge est soluble dans l'eau, légèrement dans l'éther de pétrole, le benzène, le toluène, l'alcool éthylique. Insoluble dans le chloroforme, l'éther sulfurique, l'alcool amylique et butylique.

Longévité dans les cultures dépassant trois mois.

Ce germe se montra très pathogène pour la souris qui mourait en cinq heures à la suite d'une injection intrapéritonéale de 0,5 ml de culture en bouillon.

Position taxinomique.

La couleur rouge des enduits microbiens nous oriente immédiatement vers la tribu des *Chromobactereae*, genre *Serratia*.

La solubilité du pigment dans l'eau, l'absence d'H₂S et, enfin, la très grande toxicité du germe pour la souris imposent ici le diagnostic de *Serratia piscatorum*.

Nous précisons un certain nombre de caractères biochimiques non décrits dans les traités classiques, en particulier le comportement en présence de KCN, du citrate de soude, l'action sur l'urée, etc.

50° Huîtres de Charente-Maritime.

Bacille Gram négatif, mobile, obtenu par culture directe du broyage de coquillages sur un milieu minéral additionné de glycérol et asparagine. Apparition au bout de quelques jours d'un voile en surface et d'une belle fluorescence jaune dans le milieu de culture.

Gélose : colonies brillantes, butyreuses. Fluorescence jaunâtre vers le cinquième jour.

Bouillon : voile en surface, culture aisée. Fluorescence.

Gélatine : liquéfiée en trois jours. Fluorescence.

Lait tournesolé : inchangé.

Lait à 1 % de bleu de méthylène : décoloration.

Milieu de Braun au KCN : culture normale et fluorescence.

Pomme de terre : enduit chamois clair.

Dans les cultures liquides, le chloroforme n'extrait aucun pigment.

Uréolyse : 0. H₂S : 0. Indole : 0. Peroxydases : 0.

Nitrites : réaction positive. Citrate de soude alcalinisé.

Acidifie : galactose, levulose, maltose, mannitol, saccharose.
Sans action sur le glucose, xylose, arabinose, cellulose.

Position taxinomique.

L'élaboration d'un pigment fluorescent nous dirige vers le genre *Pseudomonas*.

Nous sommes ici dans le groupe des *Pseudomonas* protéolytiques, réducteurs de nitrates en nitrites, sans action sur le glucose, ne modifiant pas le lait tournesolé, cultivant entre 18° et 20°, mais non à 37°.

Il faut situer ce germe parmi les bactéries marines auprès du type « *Ps. Pleomorpha* », dont il diffère par la non-production de H₂S et quelques attaques sucrées. Il ne s'agit là que d'une simple variété.

50° bis. *Huîtres charentaises.*

Une germe très voisin fut isolé d'huîtres charentaises également. Cette fois, il s'agissait d'une forme muqueuse, donnant sur gélose des enduits visqueux.

La réaction des catalases était positive.

Nous avons porté pour ce germe le même diagnostic de *Ps. pleomorpha*.

51° *Boue de la Charente (Ménantaud).*

Bacille mobile, Gram négatif, non sporulé.

Culture aisée sur tous les milieux. Enduits vernissés gris sale sur la gélose. Pas de pigments. La gélose n'est pas attaquée.

Bouillon : trouble, uniforme, dépôt abondant, voile fragile.

Gélatine : liquéfiée.

Lait acidifié, non coagulé.

Nitrates réduits en nitrites. H₂S : 0. Indole : 0. Ne cultive pas en KCN de BRAUN.

Uréolyse : négative. Pas de culture sur le citrate de soude.

Fermente avec gaz : glucose, lactose, mannite, maltose et glycérol; sans gaz, sans action sur l'inositol.

Position taxinomique.

Un tel germe entraîne un certain nombre de remarques. Il s'agit d'une espèce mobile, achromogène, mais gazogène. Ce caractère s'oppose à la définition des *Achromobacter*. Les germes achromogènes gazogènes sont, le plus souvent, des *Erwinia*. La liquéfaction de la gélatine, l'absence d'uréolyse, l'épreuve négative qui fut pratiquée sur l'A.P.P., l'absence d'indole et de H₂S ne permettait pas de classer cette bactérie dans le genre *Proteus* auquel on aurait pu penser.

Notre bactérie est donc une *Erwinia*, ses caractéristiques biochimiques la rapprochent de l'espèce « *carotovora* », isolée il y a longtemps par JONES, en 1901, sous le nom de *Bacillus carotovorus*. Ce germe fut considéré comme responsable de pourritures molles de nombreuses plantes, mais il a été plusieurs fois retrouvé dans les eaux et les sols cultivés.

Le germe classique est, lui aussi, gazogène, fermente les mêmes sucres, acidifie le lait sans le coaguler, ne donne ni H₂S, ni indole, réduit les nitrates en nitrites.

Nous précisons ici que cette *Erwinia* ne cultive pas sur le citrate de soude et qu'elle n'est pas uréolytique. Sa culture sur le milieu de BRAUN est conforme aux données expérimentales fournies par KAUFFMANN et ses collaborateurs.

52° *Boue de la Charente (souche Ménantaud).*

Bacille Gram négatif, mobile.

Cultive aisément à la température du laboratoire.

Cultures épaisses sur la gélose, enduits vernissés, chamois sale.

Pas d'odeur spéciale. L'enduit devient visqueux et adhère à la gélose.

Bouillon : trouble, épais. Pas de pigments ni d'odeur.

Lait coagulé et acidifié.

Ne cultive pas sur le citrate de soude.

H₂S : 0. Indole : +. Uréolyse : négative. Réaction des nitrites : positive.

Gélatine : liquéfiée.

Fermente avec gaz : glucose, mannite et maltose; ne cultive pas en présence de KCN.

Position taxinomique.

Là encore, le dégagement gazeux nous dirige vers le genre *Erwinia*. Il existe un germe décrit en 1917 par HAMMER sous le nom de *Bacillus ichthyosmia*, puis sous des noms variés, tels que : *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas ichthyosmia*, par différents auteurs. Il nous manquait ici l'odeur de poisson considérée comme caractéristique de l'espèce. Mais les propriétés biochimiques majeures étaient rassemblées : protéolyse, réduction des nitrates en nitrites, même action sur le lait et sur les sucres, etc.

L'hypothèse d'une *Enterobacteriaceae* du groupe *Proteus-Providencia* fut écartée par les épreuves négatives de l'APP et de l'uréolyse. Nous avons donc conclu à une variété anosmique d'*Erwinia ichthyosmia*.

53° Boue de la Charente (souche Ménantaud).

Bacille mobile, isolé des boues de la Charente.

Caractères majeurs du genre *Achromobacter*.

Espèce gélatinolytique, réduisant les nitrates en nitrites et acidifiant sans gaz le glucose, la mannite, le glycérol, l'amidon, le maltose.

Culture positive sur le citrate de soude.

Ni indole, ni H₂S. Pas d'action sur le lait tournesolé.

Il s'agissait là d'un germe que nous avons nous-même décrit en 1954 sous le nom d'*Achromobacter echinodermis* qui avait été isolé d'un lot d'oursins à Cannes.

54° *Boues de la Charente (souche Ménantaud).*

Bacille mobile. Gram négatif. Non sporulé.

Cultures aisées. Enduits grisâtres sur gélose. Pas de pigments.

Pas de réduction des nitrates en nitrites.

Indole : 0. H₂S : 0. Le germe cultive sur le citrate de soude en l'alcalinisant. Gélatine liquéfiée.

Fermentation du glucose et mannite avec gaz. Lactose et glycérol non attaqués. Maltose plus ou moins acidifié (lentement). Le lait tournesolé est inchangé.

Position taxinomique.

La production de gaz dans les milieux sucrés oriente vers le genre *Erwinia* ou *Phytobacterium*.

L'espèce la plus proche est le *Phytobacterium reducans*, décrit par ANGST, en 1929, sous le nom d'*Agar-bacterium reducans*. Cette espèce, isolée d'algues marines, attaque, en général, la gélose. Ici, ce caractère manque, mais nous savons que l'agaro-lyse varie avec les souches. Il y a des germes du Pacifique agaro-lytiques correspondant à des espèces atlantiques qui, ce caractère mis à part, sont identiques. C'est le cas ici. Notre bactérie possède les caractères majeurs de la souche *reducans* de ANGST, mais elle n'est pas agaro-lytique ni cellulolytique.

Nous dirons, en conséquence, que nous avons affaire à une souche de *Phytobacterium reducans*, que nous proposerons, du reste, d'appeler *Erwinia reducans*, en raison de l'aérogenèse de cette bactérie. (Nous aurons l'occasion de revenir sur ce problème.)

55° *Urine purulente.*

Bacille Gram négatif. Immobile, légère odeur aromatique dans les cultures. La souche a été purifiée sur gélose de KRISTENSEN (lactose + rouge de phénol + vert brillant) pour éliminer quelques entérocoques (*Streptococcus fecalis*).

Gélose : culture abondante, luisante, grisâtre.

Bouillon : trouble, uniforme; la culture débute en surface. Aucun pigment sur les milieux.

Gélatine : début de liquéfaction à la quarante-huitième heure.

Lait : acidifié lentement, pas de coagulation.

Sérum coagulé : pas de digestion du milieu. Culture modérée.

Citrate de soude : non alcalinisé. KCN : culture positive.

Indole : 0. H₂S : 0. Uréolyse : négative.

Nitrates non réduits en nitrites.

Attaque sans gaz : glucose et très lentement le lactose; sans action sur le levulose, mannitol, glycérol, inositol.

Position taxinomique.

Ces caractères orientent vers les achromogènes immobiles, c'est-à-dire les *Acinetobacter*.

Cette souche protéolytique, glucidolytique, mais ne réduisant pas les nitrates en nitrites, était très voisine du germe décrit par BILLING, sous le nom d'*Achromobacter anitratum*, variété *saponiphilum*.

Nous avons montré, en 1956, que ce microbe devait être appelé, en raison de son immobilité, *Acinetobacter*. Comme, d'autre part, il est protéolytique, il ne peut être considéré comme une simple variété de l'espèce *anitratum* qui n'attaque jamais les protéines du type de la gélatine. La gélatinolyse, caractère majeur, oblige à faire de ce germe une espèce bien individualisée. Nous avons proposé le nom d'*Acinetobacter saponiphilum*.

Un tableau résume les caractères de quelques souches que nous avons pu étudier au cours de ces dernières années.

Chaque description a été suivie d'une courte discussion taxinomique qui permet au lecteur d'entrevoir comment a été élaborée la classification que nous proposerons dans un instant. Tout au long de ces discussions, il a été tenu le plus grand compte de ce que nous entendons par « caractères majeurs » et « caractères mineurs ».

Ce tableau révèle, en outre, l'ubiquité non encore soulignée de certaines espèces comme *Achromobacter delicatulum*, rencontré dans de l'eau minérale, des coquillages, un aquarium et en médecine humaine.

Achromobacter sewerini, que l'on trouve dans l'eau d'égouts, des coquillages, de l'eau minérale, un crachat, une uréthrite chronique, etc.

L'importance des bactéries achromogènes, immobiles, constituant le groupe *Acinetobacter*, ne peut échapper non plus à la lecture de ce tableau d'ensemble.

L'étude d'une cinquantaine de souches nous a permis de compléter bon nombre de caractères cultureux et de regrouper des espèces très voisines.

L'intérêt des *Pseudomonadaceae* ne peut échapper au lecteur.

On rencontre ces germes dans les circonstances les plus variées. Nous avons à dessein choisi les origines les plus diverses à nos souches pour bien souligner ce point particulier.

Caractères généraux

NOMS	PROVENANCE	M	Pic.	L	N
<i>Ps. ferruginea</i>	Hémoculture souillée	+	Sépia	—	—
<i>Ps. pleomorpha</i>	Huîtres	+	Fluores.	—	+
<i>Ps. fluorescens</i>	Huîtres	+	Fluores.	Ac	+
<i>Ps. fluorescens</i>	Moules	+	Fluores.	Ac	+
<i>Ps. schuylkillensis</i>	Lait	+	Fluores.	Ac	—
<i>Ps. schuylkillensis</i>	Eau	+	Fluores.	Ac	—
<i>Achr. iophagum</i>	Aquarium	+	Néant	—	+
<i>Achr. litoralis</i>	Eau de mer	+	Néant	—	—
<i>Achr. tralucida</i>	Eau de mer	+	Néant	—	+
<i>Achr. ichthyodermis</i>	Ecailles de poissons	+	Néant	Ac	+
<i>Achr. ichthyodermis</i>	Boue marine	+	Néant	Ac	+
<i>Achr. gemminum</i>	Boue marine	+	Néant	—	+
<i>Achr. labrum</i>	Eau de mer	+	Néant	Ac	+
<i>Achr. guttatum</i>	Fumier	+	Néant	—	—
<i>Achr. salopium</i>	Eau	+	Néant	—	—
<i>Achr. delicatulum</i>	Eau	+	Néant	Ac	+
<i>Achr. delicatulum</i>	Poisson	+	Néant	Ac	+
<i>Achr. delicatulum</i>	Coquillages	+	Néant	Ac	+
<i>Achr. delicatulum</i>	Angine	+	Néant	Ac	+
<i>Achr. echinodermis</i>	Boue marine	+	Néant	—	+
<i>Achr. sewerini</i>	Eau d'égouts	+	Néant	—	+
<i>Achr. sewerini</i>	Eau minérale	+	Néant	—	+
<i>Achr. sewerini</i>	Huîtres	+	Néant	—	+
<i>Achr. sewerini</i>	Eau de mer	+	Néant	—	+
<i>Achr. agile</i>	Urethrite	+	Néant	Al	+
<i>Achr. sewerini</i>	Crachats	+	Néant	—	+
<i>Achr. venenosum</i>	Eau de mer	+	Néant	Ac	—
<i>Achr. arvillum</i>	Eau de mer	+	Néant	—	—
<i>Achr. alcaligenes</i>	Eau de mer	+	Néant	Al	—
<i>Achr. alcaligenes</i>	Eau de mer	+	Néant	Al	—

des souches étudiées

	C	H ₂ S	G	U	K CN	SUCRES FERMENTÉS.	N°
—	+	—	—	—	+	Néant.	13
—	+	—	+	—	+	Galactose, lev., malt., man., sacch.	52
—	+	—	+	—	+	Néant.	30
—	+	—	+	—	+	Néant.	30
—	+	×	+	—	+	Néant.	34
—	+	—	+	—	+	Néant.	43
—	+	+	+	—		Arab., dex., gal., glyc., lact., lev., man., gluc., malt., amid.	1
—	+	—	+	—		Inul., gluc., ar., xyl., man., lev., inos., sal., raf., rham., glyc.	2
—	—	—	—	—		Gluc., raf., rham., malt., lact., glyc., amid., man., sacch.	3
—	—	—	+	—	+	Gluc., malt., sacch., man., arab., gal.	4
—	—	—	+	—	+	Gluc., malt., sacch., man., arab., gal.	4
—	—	—	—	+		Arab., gluc., man., sacch.	7
—	—	+	—	—		Arab., gal., gluc., man.	8
—	×	+	—	—		Gluc., ar., xyl., rham., sacch., raf., amid., lact., lev., gal., man.	9
—	—	—	—	—		Xyl., gluc., malt., sacch.	10
—	—	—	+	—	+	Lact., sacch., man., gal., lev., malt., glyc., gluc.	11
—	—	—	+	—	+	Gluc., sacch., malt., man., gal., lev.	47
—	—	—	+	—	+	Gluc., lact., galact.	29
—	—	—	+	—	+	Gluc., man., malt., glyc., amid.	42
—	+	—	+	—	—	Gluc., man., malt., glyc., amid.	
—	—	—	—	—	+	Néant.	14
—	—	—	—	—	+	Néant.	15
—	—	—	—	—	+	Néant.	16
—	—	—	—	—	+	Néant.	25
—	+	—	—	—	+	Néant.	38
—	—	—	—	—		Néant.	45
—	+	—	—	—		Néant.	17
—	—	—	—	—		Gluc., mannite.	18
—	—	—	—	—		Gluc., mannite.	18'
—	—	—	—	—		Néant.	26

Noms	PROVENANCE	M	Pic.	L	N	
<i>Achr. mariense</i>	Eau de mer	+	Néant	Al	—	—
<i>Achr. agile</i>	Moules	+	Néant	Al	+	—
<i>Achr. agile</i>	Eau de mer	+	Néant	Al	+	—
<i>Pinnatum</i>	Urines	+	Néant	Red	+	—
<i>Pinnatum</i>	Selles	+	Néant	Red	+	—
<i>Achr. liquefaciens</i>	Sinus	+	Néant	—	—	—
<i>Achr. stoloniferum</i>	Sinus	+	Néant	—	—	—
<i>Achr. stoloniferum</i>	Sinus	+	Néant	—	—	—
<i>Achr. stoloniferum</i>	Œil	+	Néant	—	—	—
<i>Acin. marshalii</i>	Poisson	—	Néant	—	—	—
<i>Acin. winogradsky</i>	Poisson	—	Néant	—	—	—
<i>Acin. parvulum</i>	Eau	—	Néant	—	+	—
<i>Acin. eurydice</i>	Eau de mer	—	Néant	—	—	—
<i>Acin. stationis</i>	Eau de mer	—	Néant	Al	+	—
<i>Acin. saponiphilum</i>	Huîtres	—	Néant	Ac	—	—
<i>Acin. saponiphilum</i>	Urine	—	Néant	Ac	—	—
<i>Acin. lwoffii</i>	Moules	—	Néant	—	—	—
<i>Acin. stenohalis</i>	Moules	—	Néant	—	+	—
<i>Acin. anitratum</i>	Eau	—	Néant	Ac	—	—
<i>Acin. polymorpha</i>	Boue marine	—	Néant	—	—	—
<i>Flavo. marinum</i>	Eau de mer	+	Jaune	—	—	—
<i>Flavo. marinum</i>	Eau de mer	+	Jaune	—	—	—
<i>Flavo. biazotea</i>	Eau de mer	+	Jaune	Ac	+	—
<i>Flavo. aurantinum</i>	Eau de mer	+	Jaune	—	+	—
<i>Flavo. typhi</i>	Eau de mer	+	Jaune	Ac	+	—
<i>Flavo. hydrophilum</i>	Grenouilles	+	Jaune	Ac	+	—
<i>Flavo. hydrophilum</i>	Carpes	+	Jaune	Ac	+	—
<i>Empedobacter esteroaroma-</i> <i>ticum</i>	Urine	—	Jaune	—	—	—
<i>Ser. piscatorum</i>	Huîtres	+	Rouge	Ac	+	—
<i>Erwinia carotovora</i>	Boue marine	+		Ac	+	—
<i>Erwinia ichthyosmia</i>	Boue marine	+		Cog	+	—

C	H2S	G	U	K CN	SUCRES FERMENTÉS.	N°
—	+	—	—		Néant.	27
+	—	—	—	+	Néant.	
+	—	—	—		Néant.	
+	+	—	—		Arab., galact., gluc., man., am.	39
+	+	—	—		Arab., galact., gluc., man., am.	39 bis
+	+	+	—		Glucose.	40
—	—	+	—		Néant.	41
—	—	+	—	+	Néant.	41
—	—	+	—		Néant.	50
—	—	+	—		Néant.	5
—	—	—	+		Arab., sacch., gluc.	6
—	—	—	—		Néant.	12
—	—	—	—		Gluc. (lent).	21
+	—	+	—		Gluc. (lent).	22
+	—	+	—		Gluc., lact.	24
+	—	—	—		Néant.	55
—	—	+	—		Néant.	28
+	—	—	—		Gluc., arab., rham., lact.	31
+	—	—	—		Gluc., arab., rham.	35
+	—	—	—	—	Gluc., man.	18
—	—	+	—		Gluc., man.	19
—	—	+	—		Gluc., lact.	20
+	—	+	—		Gluc., lev., galact., malt.	20'
—	+	—	—		Gluc., man., arab., malt., xyl., rha.	23
+	—	—	—		Gluc., man., arab., xyl.	33
—	×	+	—	+	Gluc., malt., glyc.	36
—	×	+	—	+	Gluc., malt., glyc.	37
Ac	—	+	—	+	Néant.	48
+	—	+	—	+	Gluc., lact., lev., man., sacch.	51
—	—	+	—	—	Gluc., lact., man., malt., glyc.	53
—	—	+	—	—	Gluc., man., malt.	54

DEUXIEME PARTIE

Recherches
sur le métabolisme
de quelques Pseudomonadaceae

Dans ce chapitre, seront rapportées quelques données expérimentales constituant une contribution à l'étude du métabolisme microbien chez les *Pseudomonadaceae*.

Nous sommes ici, en effet, dans une famille tellement riche que l'on peut dire sans commettre une grave erreur que les *Pseudomonadaceae* sont aptes à tous les métabolismes. Il est peu de substrat qui ne puisse être métabolisé par au moins un représentant de la famille des *Pseudomonadaceae*.

Bien entendu, nous n'avons pu envisager tous les métabolismes. Seuls les glucides, les thiocomposés et les hydrocarbures ont été expérimentés sur quelques souches caractéristiques.

METABOLISME GLUCIDIQUE

Trois souches de *Pseudomonas aeruginosa* récemment isolées ont été soumises à des expériences de glucidolyse.

Il est admis, et l'expérience quotidienne le confirme, que le pouvoir glucidolytique en milieu peptoné est très réduit, en ce qui concerne *Pseudomonas aeruginosa*, le classique bacille pyocyanique.

En eau peptonée, seul le glucose, et parfois l'arabinose, sont acidifiés, de façon irrégulière du reste.

En milieu minéral, il en va autrement, comme nous allons le montrer.

Protocole expérimental.

Le milieu synthétique suivant fut préparé :

$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$: 0,1.

$\text{PO}_4\text{H Na}_2$: 0,1.

$\text{SO}_4 \text{Mg}$: 0,2.

$\text{SO}_4 (\text{NH}_4)_2$: 0,2.

NaCl : 0,8.

H_2O : 100 ml; pH ajusté à 7,3 avec NaOH .

Sterilisation à 100° pendant dix minutes.

Au moment de l'emploi, on ensemençait le milieu avec des cultures fraîches prélevées sur milieu solide. On ajoutait 2 gouttes d'une solution sucrée stérile à 20 % pour 10 ml de milieu. L'hydrate de carbone, qui fut ici la mannite ou le lactose, représenta la seule source de carbone mise à la disposition de la bactérie.

Incubation : 37° pendant plusieurs jours.

La réaction du milieu était vérifiée à partir du troisième jour à l'aide d'une solution de bromothymol bleu.

Les cultures se développèrent rapidement, et le milieu commença à prendre une réaction acide entre le cinquième jour pour le lactose et le sixième jour en présence de mannite.

Des cultures-témoins effectuées en eau peptonée sucrée dans les mêmes conditions restèrent neutres ou légèrement alcalines. ce qui concordait avec les données classiques.

Il faut donc admettre que, placé dans des conditions de « disette » en milieu pauvre où seul le sucre représente la source d'énergie carbonée, *Pseudomonas aeruginosa* attaque le lactose et la mannite.

Nous avons retrouvé un comportement analogue chez plusieurs entérobactéries lactose négatives. On se retrouvait là en présence d'un phénomène adaptatif bien connu en microbiologie

générale. Il est aussi un exemple de l'alimentation préférentielle des bactéries, qui font un choix parmi les aliments qui leur sont offerts. Les unes se nourrissent de préférence aux dépens des protéines, d'autres attaquent les sucres en premier lieu.

Caractères biochimiques particuliers de Ps. aeruginosa.

Dans le même milieu synthétique, additionnée de traces de fer, sous forme de sulfate, nous avons examiné le comportement de *Ps. aeruginosa* en présence de produits énergétiques variés dont le tableau suivant donne l'ensemble :

<i>Substance ajoutée au milieu</i>	<i>Culture à 37°</i>	<i>Temps</i>
Tyrosine	++	3 jours
Thiomalate de Na	+	3 jours
Fumarate de Na	++	2 jours
Asparagine	+	2 jours
Glutamate de Na	++	3 jours
Diéthylldithiocarbamate de Na ..	0	
Glycocolle	++	24 heures
Taurine	+	48 heures
Cystine	++ et H ₂ S	24 heures
Alcool méthylique	+	4 jours
— éthylique	+	4 jours
— amylique	0	
— butylique	++	48 heures
Phénol	++	3 jours
Benzène	+ faible	

On retrouve dans cette expérience le dégagement de H₂S en présence de cystine que nous signalons au cours des expériences consacrées au métabolisme soufré des *Pseudomonas*.

On voit sur ce tableau que le *Pseudomonas aeruginosa* peut utiliser un grand nombre de substances comme source d'énergie carbonée.

Le taux de ces produits dans le milieu de culture était de 0,2 %.

ETUDES PORTANT SUR LA CHROMOGENESE

Les pages précédentes et la systématique nous apprennent que certaines espèces de la famille des *Pseudomonadaceae* élaborent parfois des pigments solubles bruns, rouges ou sepia noirâtres. Nous avons recherché les relations possibles entre ces pigments et ceux que l'on rencontre ailleurs chez les êtres vivants : plantes ou animaux.

En quoi ces pigments diffèrent-ils des autres pigments microbiens que nous connaissons et qui ont été passés en revue?

Comment se forment-ils?

L'expérimentation entreprise a été soutenue par l'hypothèse d'une analogie entre les pigments mélaniques rencontrés dans la nature et ces pigments particuliers à certaines bactéries. On sait qu'ils tirent leur origine d'une transformation enzymatique de la tyrosine ou de la phénylalanine par les tyrosinases.

Les résultats expérimentaux semblent confirmer notre hypothèse de travail :

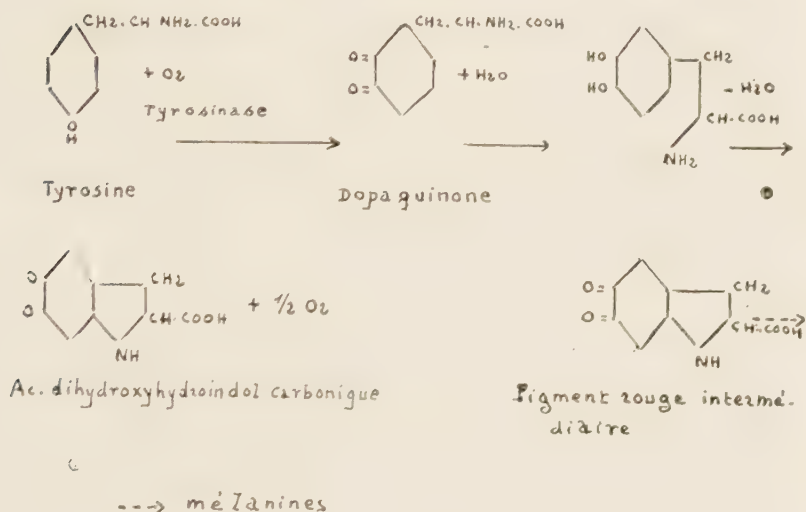
Les tyrosinases sont des phénoloxydases très répandues dans le monde vivant. Elles président à la formation des pigments rouges ou noirs, les mélanines, en suivant une chaîne de transformation dont les éléments principaux sont la dopaquinone, l'acide dihydroxy-hydroindol-carbonique; le pigment rouge intermédiaire qui, par polymérisation — selon un processus encore mal connu — aboutit aux mélanines. Les tyrosinases oxydent également des phénols monohydriques et dihydriques en ortho.

On sait, enfin, que les ions cuivre accélèrent l'activité de ces enzymes. Cette propriété a été mise ici à profit dans nos recherches. Les tyrosinases ont été très peu étudiées chez les bactéries. Certains auteurs sont même allés jusqu'à mettre leur existence en doute.

La décarboxylation de la tyrosine et de la phénylalanine, leur désamination, transamination ont été mises en évidence à plusieurs reprises chez un grand nombre de bactéries. Ces recher-

ches ont même fourni des tests de diagnose intéressants, notamment chez les *enterobacteriaceae*. Il n'y a là rien de bien nouveau.

Par contre, l'hypothèse de la production de pigments bruns ou rouges par certains germes aux dépens de la tyrosine ou de la phénylalanine, grâce à l'action de la tyrosinase, ne semble pas avoir été exprimée d'une manière précise.



Protocole expérimental.

La détection des tyrosinases a été faite à l'aide d'un milieu inspiré de celui qu'utilisa HUMM, en 1946, pour étudier le métabolisme des bactéries marines agarolytiques.

Nous avons adopté la formule personnelle suivante :

- Tyrosine : 0,2 (taux de saturation),
- Peptone : 0,3,
- Extrait de levure : 0,2,
- Eau : 100 ml,
- Ajuster à pH : 7,3; stériliser à 100°,

après avoir réparti le milieu en tubes à raison de 5 ml par tube.

Au moment de l'emploi, on ajoute au milieu 1 à 2 gouttes d'une solution stérile de $\text{SO}_4 \text{ Cu}$ à 0,5 %.

Ensemencer la souche à étudier en partant d'une culture sur milieu solide. On laisse à l'étuve ou à la température du laboratoire selon les exigences du microbe. La durée d'observation va de quelques jours à un mois et demi.

La tyrosine peut être remplacée par une dose équivalente de phénylalanine.

La présence de tyrosinase est révélée par le virage du milieu au rouge, au brun plus ou moins foncé, parfois au sépia foncé.

Nos expériences ont porté sur plus de soixante souches microbiennes différentes. (*Enterobacteriaceae* variées, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, etc.)

Jusqu'ici, les seuls germes capables de donner une teinte foncée au milieu ont été une souche de *Proteus morgani*, *Proteus mirabilis*, un *Providencia*, six souches de *Pseudomonas aeruginosa* sur six, deux souches de *Ps. fluorescens* sur douze.

Une souche de *Ps. Ferruginea* était particulièrement active et donnait une forte coloration sépia au milieu.

Une partie de ce travail a été publiée en collaboration avec MÉNANTAUD.

D i s c u s s i o n.

Les germes susceptibles d'élaborer un pigment allant du rouge au noir aux dépens de la tyrosine ou de la phénylalanine sont peu nombreux.

Ils appartiennent, pour la plupart, à la famille des *Pseudomonadaceae* et, plus spécialement, au genre *Pseudomonas*.

Toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* que nous avons étudiées donnaient une réaction positive sur notre milieu.

Si l'on s'adresse à l'espèce *fluorescens*, germes fréquents dans les eaux, on ne rencontre que de rares souches productrices de tyrosinases. Peut-être serait-il possible de provoquer l'apparition d'enzymes adaptatifs par passages successifs en milieu tyrosiné. Des expériences sont en cours sur ce sujet.

Il y a indépendance de formation des pigments bleus et noirs chez les Ps. aeruginosa.

Si l'on cultive des *Pseudomonas aeruginosa* bons producteurs de pyocyanine, sur le milieu à base de tyrosine, on constate que la formation de pigment brun noir masque rapidement la teinte bleue de la pyocyanine qu'il est facile de remettre en évidence en l'extrayant par le chloroforme. Les tubes de culture traités offrent alors l'aspect suivant :

La couche chloroformée inférieure est fortement teintée de bleu, la phase aqueuse conserve le pigment rouge ou noir.

Ceci montre l'indépendance des deux pigments. On sait, du reste, que les complexes bleus sont chimiquement très différents du pigment rouge et des mélanines.

On peut déduire aussi de cette expérience que les variétés de *Pseudomonas* dites « érythrogènes » ou « mélanogènes » des auteurs anciens ne sont peut-être que des variétés riches en tyrosinases, capables de transformer la tyrosine des milieux ordinaires en pigments rouges ou noirs, qui masquent les pigments bleus ou fluorescents.

L'étude particulière d'une souche de *Ps. ferruginea* que nous avons isolée d'une hémoculture souillée a permis de vérifier que la production de pigment rouge n'a lieu que dans un milieu contenant de la tyrosine.

Cultivée en milieu synthétique ne contenant que de l'asparagine et de la glycérine comme sources de carbone et du sulfate de NH_4 comme source d'azote, la souche n'a donné aucun pigment, bien que les cultures fussent très normales.

Ceci est une preuve de plus en faveur de notre thèse attribuant les pigmentations rouges et noires à des colorants provenant de la tyrosine.

*PRODUCTION D'HYDROGENE SULFURE
PAR LES PSEUDOMONADACEAE*

Depuis 1952, nous avons étudié le métabolisme soufré d'un certain nombre de bactéries et montré, par exemple, qu'*Escherichia coli*, considéré par certains comme non producteur de H₂S, en produit, au contraire, très souvent lorsque l'on a soin de ne pas incorporer de métal lourd au milieu (sel de Pb ou de bismuth).

Le réactif placé au-dessus du milieu de culture sous la forme d'un papier imprégné de sel métallique (plomb, argent, bismuth ou fer) révèle tout aussi bien la présence de H₂S. Les métaux lourds que nous venons de citer sont des inhibiteurs d'enzymes et gênent le déroulement de certaines réactions biochimiques, aussi est-il préférable d'abandonner les milieux où les métaux entrent en contact intime avec les bactéries.

Nous avons appliqué ces techniques très classiques à nos recherches sur les *Pseudomonadaceae*.

En collaboration avec MORAND, nous avons établi que seuls les thiocomposés contenant un —SH libre ou facilement libérable permettaient aux germes d'élaborer H₂S. On sait que chez les *Pseudomonadaceae* la production de ce gaz est très irrégulière. Nous en avons cherché les raisons.

Souches utilisées.

Une dizaine de souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

Six souches de *Pseudomonas fluorescens*.

Des souches récemment isolées d'*Achromobacter alcaligenes*, *Acinetobacter anitratum* et quatre souches de collection de cette espèce, trois souches de *Serratia marcescens*.

Milieux de culture.

Nous avons choisi d'abord un milieu rigoureusement privé de soufre auquel il était facile d'incorporer le thiocomposé de notre choix dans des conditions bien définies. Voici la formule de ce milieu de base :

KH ₂ PO ₄	10	g
Mg Cl ₂	0,5	g
NH ₄ NO ₃	1	g
NaCl	3	g
Glucose	10	g
Eau distillée	1 000	cc

Stérilisation à 105°.

Un second milieu avait la composition suivante :

Solution de caséine purifiée à 5 %, additionnée de 5 % de glucose.

Stérilisation à 105°.

A un litre de cette mixture, on ajoutait 5 cc de la solution saline suivante :

NaCl	5	g
MgSO ₄	11	g
Fe SO ₄	0,68	g
Citrate d'NH ₄	0,1	g
Tampon phosphate qsp	7	g
Eau 100 cc.		

Ce deuxième milieu contient du soufre minéral (sulfate de magnésium) et du soufre organique (la méthionine entre dans la composition de la caséine).

Les thiocomposés à étudier furent ajoutés aux tubes de culture dans lesquels le milieu avait été réparti. On faisait usage de solutions stérilisées par tyndalisation ou filtration. Le taux final de dilution en thiocomposés oscillait entre 2,5 mg et 5 mg pour 10 cc de milieu, soit donc 25 à 50 mg pour 100 cc. Le

papier réactif était un papier buvard imprégné d'une solution saturée de sous-acétate de plomb et séché à l'étuve.

Les tubesensemencés étaient incubés à 37° pendant quarante-huit heures.

Thiocomposés expérimentés.

Hydrosulfite de soude — Thiomalate de soude.

Hyposulfite de soude — Biotine.

Sulfoeyanate d'Ammonium — Aneurine.

Glutathion — Diethyldithiocarbamate de soude

Cystine — Diphényldithiocarbazone.

Cystéine — Diméthylaminobenzylidène.

Méthionine — Thiophène.

Taurine — Sulfure de carbone.

Thiolactose-urée — Xanthate de soude.

Sur dix souches de *Pseudomonas aeruginosa*, six seulement ont dégagé H₂S avec les composés soufrés possédant un —SH libre, à l'exception des milieux contenant le thiomalate de soude.

Les souches de *Ps. fluorescens* n'ont pas donné de H₂S.

La meilleure source d'hydrogène sulfuré semble être la cystéine.

Les essais pratiqués avec *Acinetobacter anitratum* ont révélé un dégagement de H₂S en milieu synthétique additionné de cystéine. Comme la plupart des bactéries, les *Pseudomonadaceae* sont incapables de scinder les liaisons où le soufre est pris entre deux carbones, liaisons du type —CH₂—S—CH₃ par exemple.

Seuls les champignons inférieurs peuvent réaliser une telle opération biochimique.

On pouvait conclure de ces expériences que les *Pseudomonadaceae* sont effectivement capricieuses dans leur production d'hydrogène sulfuré, et que tout dépend de la composition du milieu et des thiocomposés mis à leur disposition.

Nous avons repris deux souches d'*Achromobacter alcaligenes* qui, normalement, en eau peptonée, ne produisent jamais de H₂S.

A cette eau peptonée à 5 ‰, nous avons ajouté les thio-composés suivants : cystine, cystéine et glutathion.

Les cultures ont été incubées à 37°. Au bout de vingt-quatre heures, on notait :

En présence de cystine : H₂S = +
 — cystéine : H₂S = +
 — glutathion : H₂S = + très faible.

L'expérience fut refaite avec une souche de *Pseudomonas aeruginosa* et cinq souches de *Ps. fluorescens* et *Ps. ferrugineum*. On notait les résultats suivants :

Eau peptonée à 5 ‰	Production d'H ₂ S	
	48 heures	72 heures
<i>Ps. aeruginosa</i>	48 heures	72 heures
<i>Ps. aeruginosa</i>	—	faible
<i>Ps. fluorescens</i>	—	—
—	—	—
—	—	—
—	—	—
<i>Ps. ferruginea</i>	—	—

Eau peptonée à 5 ‰		
+ Cystéine : 25 mg %		
<i>Ps. aeruginosa</i>	++	
<i>Ps. aeruginosa</i>	+	
<i>Ps. fluorescens</i>	—	—
—	—	—
—	—	—
—	—	—
—	++ ¹	
<i>Ps. ferruginea</i>	++	

Si l'on donne de la cystéine libre, *Pseudomonas aeruginosa* l'attaque, grâce, sans doute, à une cystéinase analogue à la cystéinase d'*Escherichia coli* décrite par Cl. FROMAGEOT.

Pseudomonas fluorescens est incapable d'effectuer cette réaction.

Avec cinq souches d'*Acinetobacter anitratum*, nous avons obtenu des résultats tout aussi intéressants :

Eau peptonée à 5 ‰	Production d'H ₂ S
Souche 3826	—
— 3777	—
— Foucou	—
— 20	—
— 29	—

En milieu synthétique glucose + cystéine à 25 mg % :

	Production de H ₂ S
Souche 3826	+
— 3777	+
— Foucou	++
— 20	+
— 29	+

Normalement, *Acinetobacter anitratum* ne produit pas de H₂S. Les premiers essais conduits en eau peptonée le confirment.

Mis en présence de cystéine pure dans un milieu synthétique, sans autre source de carbone que le glucose et la cystéine, il y a eu dégagement constant de H₂S.

Acinetobacter anitratum possède donc, lui aussi, un enzyme d'adaptation, type cystéinase qu'il ne met en jeu que dans des conditions de disette bien déterminées.

Comportement en présence de thiocomposés particuliers.

Il était intéressant de rechercher quel était le comportement des *Pseudomonadaceae* en présence de thiocomposés dans lesquels le soufre est directement fixé sur le carbone —CS,

Souches utilisées.

Deux souches de *Serratia marcescens*, normalement productrices de H₂S.

Deux souches d'*Achromobacter alcaligenes*, non productrices de H₂S.

Deux souches de *Pseudomonas aeruginosa* productrices de H₂S.

But de l'expérience.

Il ne s'agissait plus, comme dans les expériences précédentes, d'apprécier un dégagement de H₂S. Les recherches étaient le prélude à des études de dessoufrage des pétroles que nous rapporterons plus loin.

Milieux utilisés.

Le milieu de base était une solution dont voici les constituants :

KH ₂ PO ₄	0,8 g
Na ₂ H PO ₄ , 2H ₂ O	4,3 g
K Cl	0,5 g
Citrate de Mg	1 g
NH ₄ 2SO ₄	1 g
H ₂ O	1 000 cc

Les thiocomposés choisis ont été :

Le sulfure de carbone, thioacétate de soude, thiophène, xanthate de soude.

Dans tous ces composés, le soufre est directement fixé au carbone.

En présence de sulfure de carbone :

— *Serratia marcescens* : développement normal ; élaboration du pigment rouge, acidification du milieu.

— *Achromobacter* et *Pseudomonas* : développement un peu plus lent.

La même expérience reprise avec eau peptonée additionnée d'une goutte de sulfure de carbone pour 5 cc de milieu :

Serratia marcescens, *Achr. alcaligenes* et *Pseudomonas aeruginosa* se développent normalement en dix-huit heures.

Acinetobacter anitratum ne cultive pas.

Le sulfure de carbone ne semble donc pas gêner outre mesure le développement de nos germes à l'exception d'*Acinetobacter anitratum*. On peut noter que le sulfure de carbone ne gêne pas la chromogénèse de *Serratia marcescens*.

On assistait du reste à l'hydrolyse assez rapide du produit qui formait au fond des tubes un dépôt blanchâtre. Mais les microbes ne participaient pas à cette transformation dont nous avons contrôlé la réalisation dans des tubes-témoins nonensemencés, et placés dans les mêmes conditions de température.

Thiophène.

Il s'agit là encore d'un composé très instable. Ajouté aux milieux synthétiques ou à l'eau peptonée, il s'est révélé nuisible à la croissance de :

Pseudomonas aeruginosa et d'*Achromobacter alcaligenes*.

Par contre, les *Serratia* ont fort bien cultivé en sa présence, l'élaboration du pigment rouge fut aussi intense que dans les tubes-témoins exempts de thiophène.

On a pu contrôler que les *Pseudomonas aeruginosa* s'adaptent au thiophène puisque nous avons, après plusieurs repiquages des souches sur milieux contenant le thiocomposé, obtenu des cultures de la bactérie.

Le thioacétate de soude ne gêne pas la croissance des *Pseudomonadaceae* que nous avons choisies pour nos expériences.

Xanthate de potassium.

On utilisait des solutions à 3 % tyndalisées à 50°.

Elles étaient ajoutées à une solution saline stérile privée de sulfate et de citrate. Le milieu de base ne contenait ni soufre ni carbone. L'azote était représenté par du nitrate de NH_4 .

En voici la composition :

KH_2PO_4	2 g.
Na_2HPO_4	10 g.
MgCl_2	0,5.
NH_4NO_3	1 g.
NaCl	3 g.
H_2O	1 000 cc.
pH 7,5, stérilisation à 105°.	

Cette solution sans glucose additionnée de xanthate permettait la culture des *Serratia marcescens*. Il n'y avait pas de production de H_2S . On notait un dépôt rougeâtre de pigment au fond des tubes.

Un germe normalement producteur de H_2S , comme notre *Serratia*, était donc incapable de libérer H_2S des xanthates où le soufre est lié au carbone.

Achromobacter alcaligenes ne cultive pas dans ces conditions.

Pseudomonas aeruginosa très lentement seulement.

Dans une eau peptonée additionnée de xanthate de potassium, nous obtenions une culture avec la *Serratia*, bien entendu, et avec *Pseudomonas* et *Achromobacter alcaligenes*.

Ces cultures positives en présence de xanthate attirent une remarque d'ordre plus général et dépassant un peu le cadre de nos recherches.

On sait que les xanthates ont été utilisés par P. DURAND pour la fabrication de vaccins. Ils sont donc bactéricides ou atténuent, tout au moins, la virulence des *rickettsies*, et des *Salmonella*. Ils ne semblent pas altérer la croissance des *Pseudomonadaceae* que nous avons étudiées.

Conclusion.

Ces produits, très volatiles, instables, ne se montrent pas hostiles à la culture de nos bactéries à l'exception du thiophène inhibiteur d'*Achromobacter* et *Acinetobacter*.

En présence du moins instable, le xanthate de potassium, un germe normalement producteur de H₂S ne peut en élaborer. Ceci montre son impuissance à scinder la liaison —CS.

Action des Pseudomonadaceae sur les pétroles.

Les recherches entreprises sur ce sujet furent dictées par l'étude des possibilités de dessoufrage du pétrole brut sous l'action des bactéries.

Il était en outre intéressant de connaître dans quelle mesure certaines bactéries du sol, les *Pseudomonas* en particulier, interviennent dans l'altération des huiles industrielles, des pétroles et dans l'attaque des récipients contenant ces produits.

Des expériences antérieures avaient déjà montré une action certaine des *Pseudomonadaceae* sur les pétroles. Il existe des bactéries « hydrocarburophiles » qui président à la réalisation d'un véritable cycle des hydrocarbures dans la nature. Les *Pseudomonadaceae* en sont les principaux représentants.

L'utilisation des hydrocarbures par les micro-organismes prend un intérêt considérable dans l'industrie des pétroles et les fabriques d'objets ayant le pétrole ou ses dérivés pour bases : décomposition microbienne des médicaments à base de paraffines, détérioration des tuyaux, câbles électriques recouverts de substances dérivées des hydrocarbures, destruction microbienne des caoutchoucs naturels ou synthétiques, etc., ont, tour à tour été envisagés par différents auteurs.

Il faut rappeler à ce propos les travaux de JOHNSON, GOODALE et JURKEVITCH (1942), les très importantes recherches de IMELIK (1948), les travaux effectués par SLAVNINA sur les bactéries isolées des champs pétrolifères, les études de ZOBELL, de STANIER, de STRAWINSKY, etc.

Les bactéries hydrocarburophiles sont largement répandues dans la nature ; on les rencontre sur le sol, dans les eaux douces et salées, sur les matériaux en décomposition, dans les vases, et même au fond des abysses. Il va sans dire que les sols et eaux souillés de résidus pétroliers en sont particulièrement riches.

Ces bactéries n'ont, en général, pas fait l'objet de déterminations précises. La plupart des auteurs se sont contentés des termes vagues : « bactéries du sol », « bactéries marines », « *Pseudomonas* », sans plus.

Dans les prospections effectuées en rade de Toulon, constamment souillée d'hydrocarbures, nous avons poussé un peu plus loin nos identifications.

Protocole expérimental.

Pour la recherche de la flore hydrocarburophile maritime nous avons fait appel au classique milieu de Zobell dont voici la formule :

Eau de mer stabilisée 1 000 ml.

Bactopeptone 5 g.

Phosphate ferrique 0,1 g.

Bacto-agar 15 g.

pH : 7,5. Stérilisation à 115° pendant quinze minutes.

Les échantillons d'eau de mer étaient prélevés :

1° Aux abords immédiats de la ville, quai de Cronstadt, lieu de souillure maxima ;

2° Le long de la grande jetée est ;

3° Dans les anses de Balaguier, de Tamaris, en grande rade, de 300 à 600 mètres du bord.

Les échantillons d'eau étaient mis en culture dès l'arrivée au laboratoire.

Un dixième de ml ou plus, selon le degré supposé de souillure, étaitensemencé dans 15 ml de milieu de Zobell préalable-

ment fondu à 56°. La gélose ensemencée était rapidement coulée dans des boîtes de Pétri reposant sur de la glace (cette précaution est dictée, nous l'avons déjà souligné, par le fait que certaines bactéries marines sont très sensibles à l'action de la chaleur ; le refroidissement rapide du milieu réduit le temps d'exposition de ces microbes à une température qui leur serait nuisible si elle se prolongeait).

Les boîtes de Pétri étaient incubées entre 18° et 20° à l'obscurité et examinées chaque jour. Dès la vingt-quatrième heure, les colonies microbiennes commençaient à apparaître. Chacune d'elles était repiquée sur une gélose de Zobell et sur les milieux différentiels classiques pour identification.

Les prélèvements d'eaux effectués s'adressaient tantôt aux eaux de surface, tantôt aux eaux du fond qui, en rade de Toulon, ne dépasse, du reste, pas dix mètres.

Résultats.

Les germes à peu près constamment identifiés ont été :

Pseudomonas fluorescens,
Flavobacterium rhenanum,
Flavobacterium marinum,
Acin. eurydice,
Achromobacter venenosum,
Achromobacter litoralis,
Achromobacter superficiale,
Acin. stationis.

Cette flore essentiellement maritime domine dès que l'on quitte la zone du littoral très fortement polluée par les *Enterobacteriaceae*, c'est-à-dire à partir de 250 à 300 mètres des quais.

C'est ce que vont illustrer les tableaux suivants :

Point 1 : Grande Rade.

Prélèvement de fond :

Salinité : 36,610 g/1 000.

Colimétrie : 20 au litre.

Putrides aérobies : néant.

Indoles : néant.

Germes au litre : 20 000.

Espèces isolées : *Esch. coli*, *Achromobacter litoralis*.

En surface :

Colimétrie : 10 au litre.

Putrides : présence. Indole : +.

Nombre de germes : 10 000.

Isolés : *Escherichia coli* et *Acin. eurydice*.

Baie du Lazaret.

Fond :

Colimétrie : 20 au litre.

Putrides : +. Indole : néant.

Germes au litre : 500 000.

Isolés : *Esch. coli*, *Achr. litoralis*, *Achr. superficiale* et
Acin. stationis.

Surface :

Colimétrie : 0.

Putrides : 0.

Indole : présence.

Germes au litre : 100 000.

Isolement de *Flavobacterium* et d'un *Proteus mirabilis*.

Nouveau prélèvement.

Fond :

Colimétrie : 0.

Putrides : 0.

Indole : +.

Germes par litre : 100 000.

Isolement : *Flavobacterium rhenanum*, *Achromobacter litoralis*.

Surface :

Colimétrie : 0.

Putrides : +.

Indole : 0.

Germes par litre : 30 000.

Isolement : *Achr. litoralis*, *Bacterium racemosum*.

Balaguier (près de la côte).

Fond :

Colimétrie : 1 000 au litre.

Putrides : + +.

Indole : + +.

Germes au litre : 600 000.

Isolement : *Escherichia coli*, *Achr. litoralis*, *Flavobacterium marinum*.

Surface :

Colimétrie : 1 000 au litre.

Putrides : + +.

Indole : + +.

Germes : 50 000 au litre.

Isolement : *Escherichia coli*, *Achromobacter litoralis*.

Grande Digue.

A 6 mètres de la surface :

Colimétrie : 20.

Putrides : 0.

Indole : +.

Germes : 500 000 au litre.

Isolement : *Flavobacterium rhenanum*, *Escherichia coli*.

Petite Rade.

Colimétrie : 10 au litre.

Putrides : 0.

Indole : +.

Isolement : *Escherichia coli*, *Flavobacterium rhenanum*.

Nous avons, bien entendu, isolé d'autres germes, tels que des vibrions, des micrococcus (*M. ureae* notamment), des *Bacterium*, des anaérobies, mais il serait hors de propos de nous étendre ici sur ces microbes qui restent en dehors du sujet. Ce qu'il importait de souligner est la constance et la prédominance de certaines *Pseudomonadaceae*, surtout *Flavobacterium* et *Achromobacter* dans les eaux d'une rade constamment souillée d'hydrocarbures. La rade militaire de Toulon en constitue un exemple typique.

Ces résultats concordent avec les conclusions fournies par les auteurs qui se sont livrés à des enquêtes sur la flore microbienne des champs pétrolifères et la bactériologie des puits de pétrole. Les *Achromobacter* et bactéries *chromogènes* y constituent la majorité.

De telles recherches ont été résumées dans l'ouvrage de BEERSTECHE (1954) d'une part, et dans la « Monographie » que nous avons consacrée à la microbiologie du milieu marin (1955) d'autre part.

Ces premières enquêtes faites dans la nature ont été complétées par une expérimentation que nous allons maintenant exposer ; nous avons préparé des milieux de culture à base de pétrole et les avonsensemencés avec de la terre de jardin ou des eaux souillées.

Préparation des milieux au pétrole brut.

Les pétroles bruts sont difficiles à incorporer aux milieux aqueux habituels.

Nous avons d'abord recherché des substances non antagonistes capables de constituer des émulsions stables de mazout. De nombreux essais furent nécessaires. C'est, en définitive, le sulforicinate de sodium au 1/10^e qui nous donna les meilleurs résultats.

A 10 ml de gélose nutritive classique préalablement fondue on ajoutait :

Pétrole : 1 ml.

Ricinoleate de sodium : 1 ml.

Après homogénéisation rapide, l'ensemble était coulé dans des boîtes de Pétri reposant sur de la glace pour activer la solidification avant la rupture de l'émulsion.

Une fois solidifiés les milieux étaient, soit abandonnés à l'air libre pendant quelques jours, soit ensemencés avec du jus de fumier, des eaux sales, de la terre de jardin.

Nous avons pu ainsi sélectionner un certain nombre de bactéries « hydrocarburophyles » assez variées : cocci chromogènes, des bacilles Gram positif, mais, là encore, la flore dominante fut représentée par des *Pseudomonadaceae*, notamment : *Serratia marcescens*, des *Pseudomonas fluorescens*, quelques, *Flavobacterium*, un *Achromobacter alcaligenes*.

Vers le cinquième ou le dixième jour apparaissaient aussi des *Microsporum* et des moisissures variées dont nous avons fait par la suite usage pour dessoufrer les pétroles.

Nous avons montré à cette occasion que seuls ces micro-organismes étaient capables de scinder les liaisons —CS des thio-composés contenus dans les pétroles.

Il est donc relativement facile, en faisant usage de l'artifice que nous venons d'indiquer, de sélectionner au laboratoire une

flore hydrocarburophyle. Les jus de fumiers en sont particulièrement riches.

Mais si dans cette flore les *Pseudomonadaceae* tiennent une place de choix, il faut souligner qu'elle n'est pas exclusive.

Action directe des pseudomonadaceae sur les pétroles bruts.

Protocole expérimental.

Les cultures microbiennes étaient effectuées dans de grands ballons de 3 litres faciles à aérer.

Dans ces ballons, nous versions un litre d'eau peptonée à 1 ‰, glucosée à 5 ‰ ou un milieu minéral glucosé au même taux.

Ces substances nutritives facilitaient le départ des cultures.

Le milieuensemencé était recouvert d'une couche de pétrole brut d'environ 4 à 5 millimètres. Le tout était abandonné à la température de 37° et à l'obscurité pendant un temps qui varia de quinze jours à trois mois.

De temps à autre, le pétrole était prélevé pour les analyses chimiques. Avant d'être soumis à ces investigations, il était lavé à l'eau distillée dans de grandes ampoules à décantation, puis à la soude à 10 % et encore deux fois à l'eau distillée pour entraîner tous les sulfates ou sulfures qui auraient pu prendre naissance sous l'action des bactéries.

Le résultat des analyses est résumé dans des courbes et des tableaux.

Pétrole brut contenant 3 % de soufre.
(Dosages effectués à la bombe calorimétrique.)

N ^{os}	Germes	Temps de contact	Taux de soufre
1.	<i>Achr. alcaligenes</i>	11 jours	2,18
2.	<i>Pseud. aeruginosa</i>	11 —	2,90
3.	<i>Achr. alcaligenes</i>	22 —	2,91
4.	<i>Pseudomonas</i>	19 —	3,01
5.	<i>Serratia marcescens</i>	19 —	2,99
6.	— —	10 —	3
7.	<i>Achr. alcaligenes</i>	4 —	2,96
8.	— —	23 —	2,92

L'examen de ce tableau montre que les *Pseudomonadaceae* utilisées n'ont pratiquement pas eu d'action sur le dessoufrage du pétrole.

Les taux de soufre se sont en effet maintenus au voisinage de 3 %.

Nous avons repris la même expérience en prolongeant le temps d'action :

N ^{os}	Germes	Temps d'action	Taux de soufre
9.	<i>Achr. alcaligenes</i>	1 mois	3
10.	<i>Serratia</i>	1 —	2,96
11.	<i>Pseudomonadaceae</i>	2 —	2,93
12.	—	2 —	2,92
13.	—	2 —	3,01
14.	<i>Serratia</i>	1 —	2,96
15.	<i>Pseudomonas</i>	2 —	2,79

Malgré la durée prolongée du contact entre les microbes et le pétrole, la chute des taux de soufre restait donc insignifiante.

C'est à la suite de ces expériences peu rentables, que nous nous sommes adressé avec plus de succès aux *Microsporum*. Rap-

pelons que nous avons obtenu des chutes du taux de soufre qui ont atteint 15 à 33 %.

Le pétrole qui avait subi le contact des bactéries ne fut cependant pas rejeté sans être soumis à d'autres recherches.

Au début des expériences, on notait, dès les premiers jours, un dégagement gazeux assez abondant et une odeur parfois désagréable, caprique ou valérianique très prononcée, parfois aromatique rappelant les pommes. Vers le quinzième jour, ces odeurs se dissipaient.

Le pétrole devenait plus facile à émulsionner, l'agitation du ballon le divisait en corpuscules ténus restant de longues heures en suspension dans le liquide.

Cette détérioration physique se traduit par des modifications sensibles dans l'allure des courbes de distillation que nous reproduisons.

Le pétrole traité par les bactéries est moins riche en composés volatils. Les premiers produits de distillation ne passent que vers 85° au lieu de 45° dans les pétroles témoins.

Il y a peut-être eu condensation de certaines chaînes et, de toute façon, destruction des produits les plus volatils. Nous avons, du reste, souligné, au début de l'expérience, un abondant dégagement de substances caproïque ou valérianique.

Discussion.

Ces expériences montrent une action certaine des *Pseudomonadaceae* sur les pétroles, mais leur impuissance à éliminer le soufre des composés organiques auxquels ils se trouve lié dans le pétrole. Or, on sait que ce sont justement des thiocomposés tels que le thiophène, dans lesquels soufre et carbone sont étroitement et directement unis.

Nous avons tout à l'heure rappelé les travaux effectués par THAYSEN (1939), HAAS (1941), IMELIK (1948), STRAWINSKI (1943), ZOBELL (1945), sur le comportement des *Pseudomonadaceae* vis-à-vis des hydrocarbures. Nos observations confirment les conclu-

sions que permettaient les recherches citées. Les pétroles sont nettement modifiés par les bactéries et sont le plus souvent altérés.

Ces notions sont rançonnées par des indicences économiques qui sont loin d'être négligeables. Elles permettent une certaine prophylaxie de l'altération des pétroles entreposés.

Si, en effet, des fissures, des affaissements du sol, des dévitrifications se produisent au niveau des réservoirs de pétrole ou de mazout, ou de tout autre produit voisin, l'eau ne tarde pas à s'infiltrer. Elle vient constituer une couche plus ou moins épaisse au-dessous des hydrocarbures. Cette eau, chargée de matières organiques et de microbes réalise en grand ce que nous avons fait au laboratoire. Les bactéries se développent et attaquent les produits entreposés, qui vont perdre ainsi bon nombre de leurs qualités. De tels faits ont été signalés dans des entrepôts de pétrole ou d'huiles minérales.

Tous ces hydrocarbures ne constituent pas par eux-mêmes de bons milieux de cultures, mais lorsqu'ils entrent en contact avec une phase aqueuse souillée de matières organiques et de microbes, ils ne sont plus à l'abri des altérations biologiques faciles à expliquer. Les *Pseudomonadaceae*, hôtes habituels du sol, se trouvent parmi les bactéries que l'on peut considérer comme responsables de ces dégâts.

L'activité des microbes est également nuisible au cours des opérations de forage. On sait, en effet, que pour faciliter le reflux de la couche de pétrole, on pratique des injections d'eau sous pression dans les poches. Les microbes entraînés par ce courant d'eau provoquent des précipitations d'hydrate de fer, de sulfures, de carbonate insolubles et de matériel cellulaire microbien.

Pour remédier dans une certaine mesure aux altérations citées, on a préconisé l'emploi de composés antibactériens variés : dérivés chlorés, amines antibactériennes anticorrosives, etc.

Conclusion.

Cette expérimentation apporte la preuve de l'activité des *Pseudomonadaceae* sur le pétrole brut. Elle rend compte des altérations importantes que peuvent subir les produits entreposés dans des conditions défectueuses. Elle en donne une explication en complète concordance avec les recherches effectuées par d'autres auteurs sur des problèmes analogues.

Pétrole brut traité par action microbienne (2 mois).

Distillation Saybolt (deux déterminations), début 85°.

2,5 %	passent avant		120°	120°
7,5 %	—		149°	147°
10 %	—		162°	156°
12,5 %	—		171°	168°
15 %	—		183°	180°
17,5 %	—		195°	188°
20 %	—		208°	205°
22,5 %	—		219°	218°
25 %	—		230°	230°
27,5 %	—		241°	247°
30 %	—		253°	259°
32,5 %	—		275°	275°
35 %	—		287°	288°
37,5 %	—		287°	288°
40 %	—		295°	303°
42,5 %	—		305°	306°
45 %	—		307°	309°
47,5 %	—		310°	310°

L'apparition de craquage vers 310° sous la pression atmosphérique rend erroné le résultat de la distillation jusqu'à 360°.

Taux de soufre total : 2,38 %.

Taux de soufre dans les distillats :

Jusqu'à 180°	0,112 %
de 180 à 250	0,409 %
de 250 à 300	0,884 %
de 300 à 310	1,864 %

Résidu de distillation : 4,167 %.

Pétrole brut non traité par les bactéries.

Distillations Saybolt (deux déterminations), début 45°.

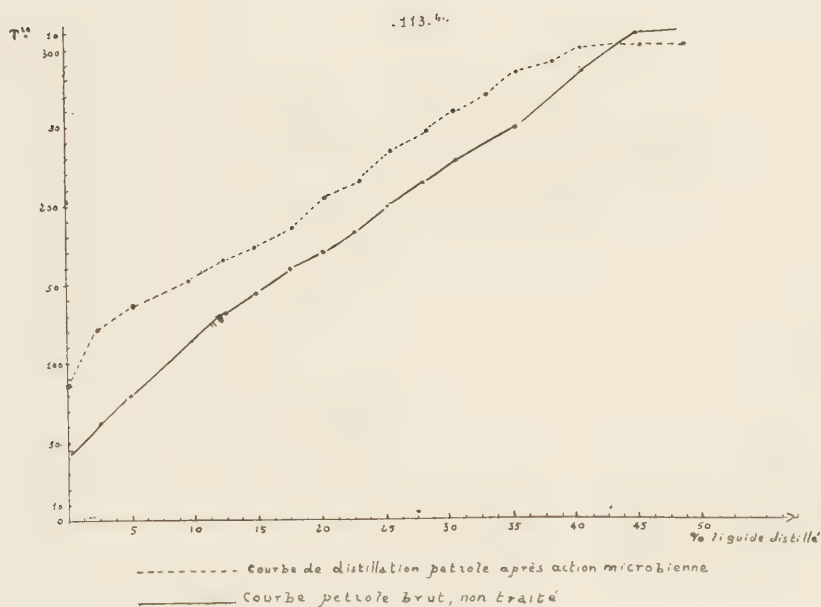
2,5 %	passent avant	68°	68°
5 %	—	87°	80°
7,5 %	—	104°	102°
10 %	—	118°	118°
12,5 %	—	132°	132°
15 %	—	145°	145°
17,5 %	—	157°	159°
20 %	—	169°	172°
22,5 %	—	190°	187°
25 %	—	202°	198°
27,5 %	—	208°	216°
30 %	—	231°	231°
32,5 %	—	245°	245°
35 %	—	258°	259°
37,5 %	—	281°	272°
40 %	—	296°	286°
42,5 %	—	306°	302°
45 %	—	315°	312°

Taux de soufre dans les fractions du distillat : soufre total : 2,52 %.

Jusqu'à 180°	0,132 %
de 180 à 250°	0,300 %
de 250 à 300°	0,840 %
de 300 à 310°	1,311 %

Résidu de la distillation : 3,931 %.

Les courbes jointes à ces documents illustrent les chiffres que l'on vient d'établir. Elles permettent aussi d'envisager la possibilité d'un « *Cracking* » microbien des pétroles qu'il serait intéressant peut-être d'expérimenter. On sait, en effet, que l'industrie réalise actuellement ce cracking à l'aide de catalyseurs coûteux qu'il faut régénérer. Les microbes bien sélectionnés donneraient sans doute des résultats, aussi bons et plus rentables. L'avenir nous le dira.



TROISIEME PARTIE

**Discussions Taxinomiques
consécutives à l'expérimentation**

**Amendements des définitions
Genres nouveaux**

DEFINITION DES *PSEUDOMONADACEAE*

Nous avons rappelé dans l'historique, la définition que WINSLOW donna, en 1917, de la famille microbienne qui nous occupe. Nous ne proposerons ici qu'un amendement. Le texte définitif étant réservé pour le chapitre IV.

Dans les définitions données jusqu'ici, il n'avait pas été fait mention de la chromogénèse qui affecte cependant plus de 50 % des *Pseudomonadaceae*.

Il était anormal de passer sous silence un caractère aussi important. Les pigments sécrétés par les *Pseudomonadaceae* sont de plusieurs types :

Ce sont : soit des pigments quinoniques, hydrosolubles, du groupe des phénazines : ils caractériseront les *Pseudomonas*; soit des pigments insolubles dans l'eau ou peu solubles, appartenant au groupe des caroténoïdes, jaunes ou jaunes orange : ils sont spécifiques des *Flavobacterium* et des *Empedobacter* ; des pigments pyrroliques violets sécrétés par les *Chromobacterium* ou rouges sécrétés par les *Serratia*.

Ces considérations montrent l'intérêt de la chromogénèse dans la taxinomie et soulignent suffisamment à quel point cette propriété qu'ont certaines *Pseudomonadaceae* de sécréter un exopigment peut être considérée comme un caractère « majeur ». C'est, en effet, un des plus frappants.

CREATION DU GENRE *ACINETOBACTER*

Le genre *Achromobacter* était hétérogène. On y avait introduit des espèces immobiles très nombreuses auprès de germes mobiles. On y rencontrait aussi des bactéries Gram positif. Proposé en 1923 par BERGEY, le genre *Achromobacter* faisait partie de la famille des *Achromobacteriaceae*, vaste groupement défini par BREED, dans lequel voisinent les genres : *Alcaligenes*, *Achromobacter* et *Flavobacterium*.

Les genres *Alcaligenes* et *Achromobacter*, constitués de bactéries Gram négatif mobiles ou immobiles, achromogènes, offrent de telles similitudes que nous les avons fusionnés. Les *Alcaligenes* ne peuvent, en effet, se différencier des *Achromobacter*; ils ont été fréquemment confondus. On en retrouve des exemples dans les données expérimentales.

Les *Achromobacteriaceae* étant par définition achromogènes, il était illogique d'y classer les *Flavobacterium*, sécréteurs de pigments jaunes ou orange. La famille des *Achromobacteriaceae* se trouva donc réduite à néant. Les bactéries achromogènes, non pathogènes pour les plantes, n'appartenant pas à la famille des *Enterobacteriaceae* pouvaient constituer une tribu dans la famille des *Pseudomonadaceae*. Cette position fut adoptée dans la systématique de J. MAGROU et A. PRÉVOT, en 1948. Les données expérimentales nouvelles ont permis un réaménagement de cette tribu dans laquelle il devint nécessaire de séparer en deux genres les espèces mobiles auxquelles fut conservé le nom d'*Achromobacter* et les espèces immobiles qui ont reçu le nom d'*Acinetobacter*, terme qui souligne leur immobilité.

Ce nouvel aménagement semble avoir donné satisfaction. Il permet de classer, à l'heure actuelle, un grand nombre de bactéries qui, jusqu'ici, faisaient, sans succès, le tour des systématiques.

C'est le cas, en particulier, de *Fecalis alcaligenes* et de ses variétés, sur lesquelles nous reviendrons, de *Bacterium anitratum*, de certaines *Shigella*, de plus rares *Moraxella*, de faux *Pseudomonas*.

Etude spéciale de quelques Achromobacter et Acinetobacter.

Nous allons considérer, en premier lieu, le cas de *Fecalis alcaligenes* :

Le genre *Alcaligenes* groupait et groupe encore pour certains auteurs les *Achromobacteriaceae* mobiles ou non, dénuées de tout pouvoir glucidolytique. Ces germes peuvent liquéfier la gélatine ou le sérum coagulé, ils alcalinisent le lait tournesolé et ne produisent pas d'acétylméthylcarbinol.

On rencontre ces bactéries dans le tractus digestif, les excréta, plus rarement dans le sang. Ce sont enfin des hôtes fréquents des eaux de rivière et du sol. De tels germes peuvent être pathogènes.

Le prototype en est le bacille isolé en 1896 par PETRUSCHKY de selles humaines. D'où le nom de *Fecalis alcaligenes* qui lui fut attribué.

Le genre *Alcaligenes* de CASTELLANI et CHALMERS a été adopté sans modifications par le « Bergey's Manual », et par J. MAGROU et A. PRÉVOT.

La systématique américaine le place en première position dans la famille des *Achromobacteriaceae*. La classification française préférerait le situer en position d'attente dans la famille des *Enterobacteriaceae*.

Les *Enterobacteriaceae* attaquant toutes les glucides et réduisant les nitrates en nitrites, il devenait difficile d'y maintenir des microbes dépourvus de ces deux caractères majeurs.

Le classique traité anglais de TOPLEY et WILSON admet la conception de NYBERG avec laquelle on différencie :

— Un type immobile, sans action sur le lait et les sucres, auquel on réserve l'étiquette de *Bacillus fecalis alcaligenes*, incorrecte, du reste, parce que trinominale et que le terme *Bacillus* est réservé aux bactéries Gram positif sporulées, mobiles.

— Un type mobile, alcalinisant, reçoit le nom de *Vibrio alcaligenes*, tout aussi impropre; le terme *Vibrio* est réservé à des bactéries en virgule, munies d'un seul cil polaire.

Dans deux importants mémoires publiés en 1952, J. TURCK a étudié soixante souches de bactéries qu'il considère comme appartenant au groupe *Alcaligenes*. De ces germes isolés des eaux de rivière et de selles, l'auteur a fait deux groupes :

Premier groupe : bacilles courts, ciliation pérित्रiche ou monotriche, peu mobiles et immobiles lorsque les cultures dépassent vingt-quatre heures. Ces bactéries forment des dépôts grumeleux dans les bouillons et des colonies opaques sur la gélose.

Second groupe : bacilles allongés, très mobiles lophotriches ou pérित्रiches. Ces bactéries cultivent en donnant des voiles sur les milieux liquides et des colonies transparentes sur la gélose.

Les caractères biochimiques des deux variétés sont irréguliers : d'une façon générale, elles sont riches en peroxydases, cultivent sur le citrate de soude, réduisent le molybdate d'ammoniaque, le tournesol et le vert janus, pour ce qui concerne les bacilles longs. Les formes courtes offrent des caractères opposés.

Les uns et les autres élaborent du H₂S, réduisent le tellurite de Na, ne produisent pas d'acétylméthylcarbinol.

Quelques souches attaquent l'urée et l'acide hippurique.

Sur la mannite et le glycérol, toutes les bactéries restèrent sans action acidifiante.

Après un entraînement de deux ans, certains germes furent capables d'attaquer le glucose, le lactose, le maltose et le saccharose.

A la suite de ces recherches, l'auteur allemand fit des essais de classification sérologique des souches isolées. Certaines montrèrent des communautés antigéniques intéressantes.

Il va sans dire que, dans ce travail, TURCK s'est trouvé en présence d'*Achromobacter* et peut-être d'*Acinetobacter*, qu'il serait maintenant aisé de classer dans la systématique que nous proposons.

C'est pour éviter ces tentatives aussi nombreuses qu'infructueuses, que nous avons demandé, avec M. PRÉVOT, la suppression pure et simple du genre *Alcaligenes* sur lequel personne n'est bien d'accord, et dont aucun argument sérieux ne permet de défendre l'autonomie.

Toutes les variétés d'*Alcaligenes*, liquéfiantes ou non, réductrices ou non de nitrates en nitrites, productrices ou non de H₂S, trouvent aisément place dans le genre *Achromobacter*, avec lequel elles se confondent souvent dans des synonymies, sans qu'il soit besoin de conserver un genre spécial ou de classer ces bactéries non glucidolytiques dans la famille des *Enterobacteriaceae* qui, par définition, ne doit comprendre que des nitrates réducteurs et des glucidolytiques.

On se rend compte, par exemple, que le germe décrit sous le nom d'*Alcaligenes metalcaligenes*, le fut aussi sous le nom d'*Achromobacter metalcaligenes* ; l'*Alcaligenes viscosum* est synonyme d'*Achromobacter viscosum*, etc. ; nous pourrions multiplier les exemples.

Les variétés mobiles *bookeri*, *recti*, *radicans*, *fecalis*, *alcalinofoetidus* possèdent tous les caractères majeurs des *Achromobacter* ; ils ont été, du reste, à plusieurs reprises, décrits comme tels.

Les formes immobiles comme *lactis*, *marshalii*, *metalcaligenes* trouvent place maintenant dans le genre *Acinetobacter*, créé justement pour ce groupe de non chromogènes immobiles. La systématique y gagne en homogénéité, elle permet aussi de

donner une place rationnelle à bien des bactéries qui, bien que fréquentes, sont encore l'objet de discussions entre les spécialistes.

Un bilan de quelques souches résumé dans un autre tableau apporte une autre preuve expérimentale au bien-fondé de la taxinomie proposée :

Total des souches : 25.

Alcaligenes. — Origine humaine, 15 : hémoculture, 3; urines, 9; selles, 3. Eaux douces : 2. Eau de mer : 3.

Venenosum. — Origine eau douce : 1.

Mariense. — Origine eau de mer : 4.

Total. — Origine humaine : 15; eaux : 10.

Les caractères majeurs de ces souches sont : la mobilité, l'inactivité sur les nitrates; les sucres et la gélatine ne sont jamais attaqués. Le lait tournesolé est alcalinisé.

L'espèce *mariense* est productrice de H₂S et cela régulièrement.

Certaines espèces peuvent parfois alcaliniser le citrate de soude.

La morphologie, les caractères biochimiques, la répartition dans la nature, la facilité avec laquelle on réalise les cultures permettent de toute évidence l'assimilation de ces bactéries et leur réunion dans un même genre, le genre *Achromobacter*.

L'espèce *mariense* vient tout naturellement se placer à la rubrique « *Achromobacter* non glucidolytiques, non gélatinolytiques, H₂S + ».

Sous le titre « ni indole, ni H₂S, non gélatinolytiques, nitrate non réduits », on classe aisément les autres espèces qui ne sont que variantes mineures de l'ancien *Alcaligenes fecalis*. La variété *venenosum*, par exemple, dont nous avons isolé une souche, s'est montrée capable d'alcaliniser le citrate de soude.

Il en résulte que bien des bactéries aquicoles, autrefois si embarrassantes à classer, trouvent une place qui semble conforme aux définitions proposées.

Le comportement de ces germes sur le lait tournesolé permet aussi de distinguer un certain nombre de variétés et d'espèces dont on résume les caractères dans le bilan suivant :

Espèces alcalinisant le lait : *Achromobacter alcaligenes* et variétés : *alcali aromaticum*, *rugosum*, *pellucidum*.

Espèces n'alcalinisant pas le lait : *Achromobacter venenosum*.

Les variétés que nous avons déjà énumérées : *hartlebii*, *immunum* et *cruciviae* n'ont que peu d'intérêt. Elles sont toutes à peu de chose près identiques à l'espèce *venenosum* dont nous avons décrit les caractères dans la première partie.

Certains points particuliers concernant ces genres *Achromobacter* et *Acinetobacter* vont maintenant nous retenir un instant.

CONSIDERATIONS SUR LES *ACHROMOBACTER*

Non protéolytiques, non glucidolytiques
ne produisant ni indole, ni H₂S.

Le chapitre précédent montre que l'on peut isoler de tels germes de milieux très différents : même de produits pathologiques. Lorsque l'on cherche à classer les souches rencontrées dans la nature, il devient évident que les espèces décrites sous des noms variés, tels que : *Achr. seaverini* (« Bergey's Manual », 1923), *Ach. stutzeri* (« Bergey's Manual », 1948), *Ach. cycloclastes* (GRAY et THORTON, 1928), *Ach. agile* (« Bergey's Manual »), *Ach. centropunctatum* (« Bergey's Manual »), *Ach.*

reticulare (« Bergey's Manual »), *Ach. dacunhae* (« Bergey's Manual »), offrent de multiples et singulières ressemblances. Tous ces germes ont été, dans l'ensemble, peu étudiés et incomplètement décrits.

La plupart furent retirés du sol, des eaux et de fosses septiques. L'espèce *stutzeri* a fait, toutefois, l'objet d'un travail relativement récent puisqu'il fut signé de van NIEL et M.-B. ALLEN, en 1952 (*J. O. Bact.*, 1952, 64, 413).

Ces auteurs considèrent la bactérie comme un *Pseudomonas*, bien qu'aucune sécrétion de pigment ne puisse être mise en évidence. Il est précisé que ce bacille donne des gaz dans les milieux contenant des nitrates, nitrites ou nitramides.

Il peut se développer aux dépens d'acides organiques comme seules sources de carbone. Les glucides ne suffisent pas à sa croissance. On retrouve ces propriétés chez tous les microbes que nous venons de citer. Les souches que nous avons isolées se développent bien sur des milieux contenant le citrate de soude comme seule source de carbone. Aucune n'attaque les glucides.

La considération de nos souches, la lecture des descriptions données par les traités ou les revues spécialisées, autorisent un regroupement de ces espèces pour lesquelles on proposera de conserver l'épithète d'*Achromobacter sewerini* qui servira de type.

Il aura pour synonymes : *Vibrio denitrificans* (SEWERIN, 1895), *Bacillus denitrificans* (STUTZER, 1895), *Bacterium sewerini* (1898), *Achromobacter stutzeri*, du « Bergey's Manual », *Bacterium stutzeri*, de LEHMAN et NEUMAN, *Pseudomonas stutzeri* (van NIEL et ALLEN, 1952), *Ach. cycloclastes*, et, peut-être, *Alcaligenes denitrificans*, *Ach. centropunctatum*, *Ach. dacunhae* décrits dans le « Bergey's Manual ».

Ce ne sont que variétés mineures d'un intérêt restreint. On envisagera donc la description du prototype de la façon suivante : bacille Gram négatif, mobile, non sporulé, non capsulé.

Souches	Gélose	Bouillon	P. de terre	G	I	H2S	L	C	N	Sucr.	U
<i>Souzerini</i>	Enduit vernissé	Trouble	++ visqueux	—	—	—	—	—	+	—	—
<i>Stutzeri</i>	Enduit vernissé	Trouble	++ visqueux	—	—	—	—	+	+	—	—
<i>Cyclodastes</i>	Enduit vernissé	Trouble		—	—	—	—	?	+	—	?
<i>Agile</i>	Enduit vernissé	Trouble	Médiocre	—	—	—	AL	+	+	—	—
<i>Centropunctatum</i>	Visqueuse	Trouble		—	—	—	AL		+	—	—
<i>Reticulare</i>	Enduit vernissé	Trouble	+ Visqueuse Normale	—	—	—	AL		+	—	—
<i>Denitrificans</i>	Enduit vernissé	Voile léger	Médiocre	—	—	—	AL		+	—	—
<i>Dacunhae</i>	Enduit vernissé	Trouble		?	?	?	?	?	+	—	—
13 et 15	Enduit vernissé	Trouble	Normale	—	—	—	—	—	+	—	—
15	Enduit vernissé	Trouble	Normale	—	—	—	AL	+	+	—	—
Prototype <i>sewerini</i>	Enduit vernissé	Trouble	Normale ou médiocre	—	—	—	—	—	+	—	—
Prototype <i>agile</i>	Enduit vernissé	Trouble	Normale ou médiocre	—	—	—	+	+	+	—	—

Cultures aisées et abondantes sur les milieux usuels. Les enduits microbiens sont fréquemment épais et visqueux. Pas de pigments.

Sur pomme de terre : enduits crémeux ou discrets selon les souches gris sale ou ocré, rose clair.

Bouillon : trouble, uniforme, avec, parfois, apparition d'un léger voile.

Gélatine : pas de liquéfaction.

Aérobiose : facultative.

Lait tournesolé : inchangé.

Nitrates : réduits en nitrites.

Quelques espèces donnent des gaz dans les milieux contenant des nitrates ou des nitrites (formation d'azote gazeux).

Aucune action sur les glucides.

Ne cultive pas sur le citrate de soude.

H₂S : 0. Indole : 0.

Attaque fréquente du phénol et du naphthalène.

Péroxydase : 0. Catalase : +.

Bactéries ubiquitaires isolées du sol, des eaux souillées, du fumier de cheval ou de bovins, parfois de produits pathologiques d'origine humaine.

Pour mieux argumenter notre thèse et appuyer la nécessité du regroupement proposé, nous résumons, dans un tableau, l'ensemble des caractères des souches décrites dans les traités et ceux des germes que nous avons étudiés.

Un second type, auquel nous conserverons le nom d'*Achromobacter agile*, servira de modèle aux souches alcalinisantes, c'est-à-dire cultivant sur le citrate de soude en le faisant virer au bleu et alcalinisant le lait tournesolé.

LE CAS DES *MORAXELLA*, *MIMEAE* ET *B. ANITRATUM* GROUPE DES *ACINETOBACTER*

FERGUSON et ROBERTS, de l'hôpital de Détroit, signalaient voilà dix ans que depuis plusieurs années ils avaient fréquemment l'occasion d'isoler un microbe Gram négatif, caractérisé par des cultures muqueuses, difficile à classer.

En janvier 1947, une souche fut envoyée à STUART. Il reconnut là un microbe que lui-même voyait fréquemment dans les produits pathologiques et qu'il avait provisoirement étiqueté B5W.

Dans un travail publié en 1950, FERGUSON et ROBERTS rappellent brièvement l'histoire de cette bactérie.

SCHAUB et HAUBER, en 1948, avaient désigné un germe analogue du nom de *Bacterium anitratum*, en raison de son inactivation sur les nitrates.

STUART et ses collaborateurs proposèrent de le rapprocher des *Enterobacteriaceae* anaérogènes.

EWING, en 1959, préféra l'inclure dans la tribu des *Mimeae* conçue par de BORD en 1939.

En 1951, BROCKE, travaillant au Danemark sur quatre-vingt-six souches, montra que près de l'espèce-type décrite par les premiers auteurs, il fallait compter avec un certain nombre de variantes.

Ces recherches furent reprises en France par D. et M. PIÉCHAUD et SECOND en 1951.

Pour ces auteurs, B5W et *Bacillus anitratum* appartenaient au genre *Moraxella*, espèce *Moraxella lwoffii* dont ils proposèrent une variété « *glucodolytica* ».

En 1952, nous avons comparé quelques souches de *B. anitratum* provenant de la collection BROOKE, les souches étudiées

par D. et M. PIÉCHAUD et des souches que nous avons isolées avec nos collaborateurs.

L'identité des caractères biochimiques de *B. anitratum* et des *Moraxella* de PIÉCHAUD fut confirmée, mais nous ne pouvions accepter l'épithète *Moraxella*.

En résumé, des germes Gram négatif très courts, immobiles, mettaient les bactériologues en discussion. Il était difficile de leur trouver une position dans la systématique. Ces microbes étaient connus sous les nom de B5W (STUART), *Bacterium anitratum* (SHAUBET HAUBER), *Moraxella lwoffii* (AUDUREAU) et variétés *glucidolytica* (D. et M.-P. PIÉCHAUD et L. SECOND), *Herellea* (EWING).

L'étiquette, toute provisoire, B5W ne peut être retenue. Elle n'offre aucun caractère officiel.

Bacterium anitratum. — On sait que le genre *Bacterium* est, pour notre taxinomie, réservé aux bacilles Gram positif asporulés. Le « Bergey's Manual », de conception trop large, y fait entrer aussi bien des espèces Gram positif que Gram négatif.

Le terme *Bacterium anitratum* ne peut donc être accepté dans la taxinomie française.

Moraxella. — Le genre *Moraxella* fut créé par LWOFF, en 1939. Il prend place, selon BERGEY, dans la famille des *Parvobacteriaceae* et la tribu des *Hemophileae*.

POCHON, dans le « Traité de Microbiologie de J. Dumas » (1952), le classe dans la famille des *Enterobacteriaceae*.

Dans le genre, BERGEY n'admet qu'une seule espèce : *M. lacunata*.

Des études antérieures avaient fait connaître des germes tels que : *Diplobacillus duplex* (LEHMANN et NEUMANN, NICOLLE et DURAND).

SCOTT avait étudié *Diplobacillus liquefaciens* de PETIT, et *Diplobacillus duplex non liquefaciens*.

Tous ces germes furent réunis dès qu'il fut constitué, dans le genre *Moraxella* qui comprenait, en somme, un certain nombre de petits bacilles Gram négatif isolés, le plus souvent de lésions oculaires.

LWOFF, en 1939, précisa que le prototype du genre devait être *Moraxella lacunata*. Ce germe présentait les caractères essentiels des *Hemophilus* exigeant des milieux enrichis en liquides organiques pour cultiver. A côté de ce prototype, il rassembla les germes que nous venons de citer.

En 1940, M^{lle} AUDUREAU montrait que des germes isolés des conjonctives pouvaient cultiver en milieux synthétiques. Elle décrit l'espèce *Moraxella lwoffii* dont elle individualisa deux types : N incapable d'utiliser les sels d'acides en C4, et S apte à métaboliser ces sels.

Dans la discussion de M^{lle} AUDUREAU, on sent un moment le désir de rattacher ces germes au genre *Achromobacter*, mais, finalement, il fut décidé de les classer parmi les *Moraxella*.

A partir du moment où, dans le genre *Moraxella*, réservé, en principe, à des espèces sérophiles et parasites presque obligatoires, on accepta des germes capables de cultiver dans des milieux synthétiques, on ouvrit la porte aux abus. Ce qui devait arriver se produisit inéluctablement : le genre *Moraxella*, si simplement précis, bien limité, fut bouleversé, et *Bacterium anitratum*, que l'on ne savait où placer, ne pouvait manquer d'y faire une apparition.

Nous avons, alors, pris part au débat :

1° En montrant après D. et M. PIÉCHAUD et SEGOND, que *B. anitratum* et *Moraxella lwoffii*, variété *glucidolytica*, étaient bien proches parents.

2° En refusant d'inclure ces germes dans le genre *Moraxella*. Le genre *Acinetobacter* était tout désigné pour les accepter. Les travaux de HENRIKSEN vinrent, du reste, appuyer notre thèse.

Deux faits précis confirmaient notre position :

Nous isolions, à cette époque, deux souches indiscutables d'*anitratum*, l'une de l'air, l'autre d'une source ferrugineuse de Savoie (La Bauche) où les circonstances nous avaient conduit à poursuivre des analyses microbiologiques.

B. anitratum n'était donc pas une espèce parasite obligatoire, il ne pouvait être question de l'assimiler au *Moraxella*.

B. anitratum devint *Acinetobacter anitratum* et les variétés décrites comme glucidolytiques ou non glucidolytiques entraient aisément dans notre classification.

Le *Diplococcus mucosus*, décrit par von LINGELSHEIM, en 1906, est très voisin, sinon identique. Cette opinion est, du reste, confirmée par SEELIGER (1953).

Diplococcus bipolaris septicemicus de REGAMEY (1938) est également identique à *Ac. anitratum*.

La *Neisseria winogradsky*, décrite par LEMOIGNE et ses collaborateurs, en 1952, n'est autre qu'une forme courte d'*Acinetobacter* isolée du sol.

Les Mimeae. — Nous ne pouvons pas clore ce débat, qui a suscité quelques discussions, sans rappeler en quelques mots le problème des *Mimeae* à la solution duquel nous avons également pris une part active; cette tribu fut proposée par l'Américain de BORD, en 1939, pour grouper des germes polymorphes, neisseriformes, c'est-à-dire très courts, Gram négatif immobiles, parfois difficiles à décolorer.

On isolait de tels germes de produits pathologiques variés : urine, pus, d'urétrites, pus d'otites, de sinus, de méningites, etc.

De BORD divisait cette nouvelle tribu en :

- 1° *Mima* : rassemblant les espèces non glucidolytiques;
- 2° *Herellea* : caractérisant les espèces glucidolytiques;
- 3° *Colloïdes* : groupant les espèces gazogènes.

HENRICKSEN, en 1952, soulignait tout l'arbitraire de cette tribu et montrait que *Mima polymorpha* était identique à

Moraxella duplex non liquefaciens. Cet auteur précisait, en outre, les similitudes frappantes entre les *Herellea* et *B. anitratum*, *Moraxella lwoffii* et variétés glucidolytiques, entre les *colloïdes* et les *coliformes*.

Nous poursuivions parallèlement l'étude de ces germes. Un cas clinique précis, contrôlé sérologiquement par M. HENRICKSEN lui-même, vint confirmer nos thèses. Il s'agissait d'un germe isolé d'un cas de méningite aiguë mortelle. Cette bactérie très courte répondait tout à fait aux descriptions que de BORD donnait de ses germes. En suivant la nomenclature de cet auteur, nous devions donner à ce microbe le nom de *colloïdes*, car, en effet, il était glucidolytique et gazogène.

L'étude biochimique et sérologique nous montra que nous étions simplement en présence d'une forme courte de *Klebsiella* (coliforme). En cultivant cette bactérie sur le milieu de Ionesco et Lwoff, pauvre en K, elle reprenait une forme bacillaire et filamenteuse.

Nous avons, par la suite, établi que les formes courtes sont très fréquentes dans la nature, spécialement dans les eaux, et que toutes les espèces peuvent, à un moment donné de leur cycle, revêtir cet aspect trompeur.

Les *Mimeae* constituent donc une tribu bien inutile, tous ses représentants peuvent être classés dans des genres déjà connus. C'est le cas, par exemple, d'*Acinetobacter polymorpha*, ex *Mima polymorpha*, dont nous avons pu étudier un certain nombre de souches.

Les « *colloïdes* » sont des formes courtes de coliformes, les *Mima* et *Herellea* ne sont que des *Achromobacter*, *Acinetobacter* ou même des *Pseudomonas*.

Des preuves expérimentales de ce que nous avançons ont été données à plusieurs reprises. Nous ne pouvons exposer ici une expérimentation déjà connue. Toutefois, il n'est pas inutile, pensons-nous, d'insister sur l'ubiquité de ces germes immobiles. achromogènes, tantôt gélatinolytiques, tantôt glucidolytiques.

	Stationis	Stenohalis	Butyri	Saponiphilum	Marshalli	Spermophilum	Equitulis	Delmarvae	Nasalis	Parvulum	Larvae	Tangellensis	Eurydice	Antrum	Winoogradsky	Coccoidum	Polymorpha	Iwoffi	Viscosum	Metalcaligene	Cyprinicida
Gélatine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrites	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indole	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Uréolyse	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lait	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannite	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycérol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(1) Variétés : ginttotensis, ubiquitum, nitrovorum, fermentationis filefaciens.
 (2) On ne manquera pas de remarquer la grande similitude existant entre les espèces Iwoffi, viscosum, metalcaligenes et cyprinicida.

parfois privés de ces caractères que certains s'obstinent à considérer comme des *Moraxella*.

L'inventaire que nous dressons est suffisamment éloquent pour montrer que ces germes si répandus ne peuvent être assimilés à des bactéries qui, au début, furent considérées comme des parasites obligatoires et classées, à juste titre, parmi les *Parvobacteriaceae*, dans le groupe des *Hemophilae*, germes qui exigent pour cultiver la présence de sang ou de sérum. Les *Moraxella* doivent rester cela et rien d'autre.

CREATION DU GENRE *EMPEDOBACTER*

De même qu'il s'est avéré nécessaire de séparer les *Achromobacter* immobiles des espèces mobiles, ainsi la création d'un genre nouveau s'imposa pour différencier les *Flavobacterium* immobiles des espèces mobiles.

Nous avons proposé le terme d'*Empedobacter*, tiré lui aussi du grec, symbolisant la fixité.

Dans ce nouveau genre, nous avons inclus toutes les bactéries productrices de pigments jaunes ou orange, du groupe des caroténoïdes, rigoureusement immobiles. Certaines de ces bactéries figuraient dans le genre *Cellulomonas* ou dans le genre *Xanthomonas*.

Aplanobacter. — Nous dirons plus loin ce qu'il faut penser du second et ce que nous avons fait du premier.

Là encore, l'expérience nous a montré l'intérêt pratique du nouveau genre, où bien des germes difficiles à classer trouvent une place logique.

LE GENRE *CELLULOMONAS*

La cellulolyse est une propriété fort répandue dans le monde microbien; nous avons pu nous en rendre compte sur un certain nombre de germes que nous n'avons pas à décrire ici car ils n'appartiennent pas à la famille des *Pseudomonadaceae*. Des travaux assez récents, notamment ceux de CLARKE et TARCEY (1956) ont montré que la cellulolyse se rencontrait fréquemment chez les *Clostridiaceae*, et les *Klebsiella*. Il n'y a donc pas lieu de retenir cette propriété pour en constituer la raison d'un genre particulier. La cellulolyse est une propriété qui ne présente rien de plus que la protéolyse, l'attaque du sérum coagulé, la chitinolyse, la lipolyse, etc. Ce caractère servira simplement dans un genre donné à distinguer les espèces douées de cette activité biochimique particulière. Le genre *Cellulomonas*, tel qu'il était constitué, constituait, du reste, un mélange d'espèces chromogènes et d'espèces ne sécrétant aucun pigment.

Nous envisageons la suppression du genre *Cellulomonas*; ses représentants en sont répartis dans les genres qui conviennent en fonction de leurs caractères majeurs (chromogénèse, mobilité, pouvoir nitrate réducteur, protéolytique, etc.).

DESCRIPTION D'ESPECES NOUVELLES

Au cours des études poursuivies depuis plusieurs années sur les *Pseudomonadaceae*, il nous est arrivé d'isoler des bactéries qui, jusqu'ici, n'avaient fait l'objet d'aucune description. Ce sont : *Achromobacter gryphea*, variété *cannensis*, et *Achromobacter echinodermis*.

Ces germes ont été isolés d'huîtres et d'oursins à Cannes. Le premier de ces microbes offrait de grandes similitudes avec une bactérie décrite, en 1950, par MOUREAU et COUGOUREUX, sous le

nom de *Bacterium gryphea arcachonensis*.

a) Le terme *Bacterium* ne peut s'appliquer à des germes gram négatif;

b) La désignation trinominale n'est pas admise dans la règle internationale de nomenclature.

Nous avons montré que le germe de MOUREAU et COUGOUREUX devait être rattaché au genre *Achromobacter* et nous avons isolé une souche voisine d'un lot de coquillage.

On trouvera la description de ces bactéries marines dans la monographie citée en référence (« Microbiologie du milieu marin », 1955).

NECESSITE DE REGROUPER LES GENRES *ERWINIA* ET *PHYTOBACTERIUM*

En étudiant un certain nombre de souches isolées du milieu marin, en particulier de plages souillées et de boue marine, nous avons été frappé des similitudes existant entre les *Phytobacterium* et les *Erwinia*.

Certains microbes isolés de coquillages, de boues, d'algues offrent les caractères généraux suivants :

Protéolyse énergique sur la gélatine.

Production fréquente d'indole et de H₂S.

Fermentation des sucres avec dégagement gazeux.

Culture souvent aisée sur le KCN, mais il ne s'agit pas d'une règle absolue.

Certaines de ces bactéries mobiles cultivent sur le citrate de soude.

L'action sur les nitrates est irrégulière. Les tests d'A.P.P. sont fréquemment négatifs.

De telles bactéries posent de difficiles problèmes.

Pour KAUFFMANN, les *Erwinia* seraient des *Enterobacteriaceae*.

Mais on ne rencontre pas ces germes dans le tractus digestif de l'homme ou des animaux. Il s'agit plutôt de la flore de végétaux en décomposition ou d'une flore phytopathogène. La majorité des *Erwinia* tirent leur nom des plantes dont elles ont été isolées. Beaucoup d'entre elles sont des agents de pourriture. Il devient donc difficile de les considérer comme des *Enterobacteriaceae*.

Il existe, bien sûr, des *Enterobacteriaceae* gélatinolytiques, comme certains *Proteus*, *Klebsiella cloacae*, ou *Arizona*. Mais les *Proteus* hydrolysent l'urée et donnent un test de l'A.P.P. positif. Tous ces germes, en outre, sont réducteurs de nitrates.

La présence de gaz dans les milieux sucrés s'oppose au genre *Achromobacter*. L'absence de pigment élimine les hypothèses de *Pseudomonas* ou de *Chromobacteriaceae*.

Dans la définition des *Erwinia*, il semble utile de faire ressortir l'absence de pigment, la mobilité, l'attaque fréquente des sucres avec dégagement gazeux, le pouvoir phytopathogène possible. Les *Erwinia*, enfin, sont des hôtes des eaux et du sol. Si, après avoir considéré la liste et les caractères des *Erwinia*, on se penche sur celle des *Phytobacterium*, on ne manque pas de souligner de nombreuses analogies.

Les *Phytobacterium*, qu'il faut réduire aux espèces achromogènes, sont des bactéries mobiles, Gram négatif, bien entendu, pathogènes pour les plantes (pourritures humides, flétrissures) que l'on rencontre aussi dans le sol, les eaux, sur les algues. Leur action sur la gélatine, les sucres, les nitrates est, comme dans le cas précédent, variable. En somme, même écologie que pour les *Erwinia*, aspect des cultures très semblable. Les *Phytobacterium* ne sont pas gazogènes, en général, dans les milieux sucrés.

Rien ne peut séparer d'une façon formelle les *Erwinia* des *Phytobacterium*. Dans les deux genres, de nombreuses espèces portent le nom des plantes dont elles ont été isolées ou pour lesquelles elles se sont montrées pathogènes.

Nous pensons que dans un avenir proche il faudra envisager la réunion de toutes les espèces en un seul genre. Beaucoup de souches se ressemblent, du reste, étrangement. La classification y gagnerait en homogénéité et en simplicité.

La tribu des *Pseudomonadaceae* se réduirait alors à trois genres :

Pseudomonas,

Agrobacterium, agents des tumeurs des plantes,

Erwinia, agents des pourritures et nécroses végétales.

Il ne nous appartient pas évidemment de prendre la responsabilité d'une telle décision. Elle est seulement souhaitable et pourrait être soumise à l'examen des experts.

LE GENRE *APLANOBACTER*

Le genre *Aplanobacter* (SMITH), J. MAGROU et PRÉVOT, Emend., 1948, comprend des bactéries phytopathogènes immobiles.

Certaines espèces chromogènes à pigments jaunes avaient été classées dans ce genre.

Lorsque nous avons créé le genre *Empedobacter* pour y grouper les bactéries chromogènes immobiles, il devint indispensable d'y faire entrer les *Aplanobacter* sécréteurs de caroténoïdes.

Cette manœuvre a réduit le genre *Aplanobacter* à cinq espèces qui se présentent un peu comme des *Erwinia* ou des *Phyto-bacterium* immobiles.

Ce sont : *Apl. dissolvens*, *Apl. acidulum* et *Apl. castigatum* qui sont, du reste, cellulolytiques. *Apl. cepivorum* et *Apl. lucrosum*.

Nous n'avons pas eu l'occasion d'isoler de telles bactéries au cours de nos recherches actuelles.

Néanmoins, nous pensons que le genre *Aplanobacter* peut être maintenu.

Il vient se placer dans la tribu des *Pseudomonadaceae*, aussitôt après les *Erwinia*.

Tous ces travaux expérimentaux et les discussions qui viennent d'être exposées vont nous permettre d'aborder avec plus d'aisance l'étude comparative des classifications actuellement en usage pour l'identification des *Pseudomonadaceae*.

Les modifications que nous avons proposées seront incorporées dans la systématique nouvelle, but de cette étude.

Il est bien évident que tous les germes que nous avons eu l'occasion de manipuler depuis une dizaine d'années n'ont pu être décrits dans les premiers chapitres. Ce serait un travail aussi fastidieux qu'inutile. Nous avons esquissé les méthodes de diagnostic appliquées aux souches les moins banales en donnant un aperçu de leur large répartition dans la nature.

QUATRIEME PARTIE

**Étude comparative
des classifications
américaine et française**

Classification française remaniée

Étude comparative des conceptions Taxinomiques américaines et françaises

DEFINITION DE LA FAMILLE DES *PSEUDOMONADACEAE*

Rappelons que nous sommes ici dans l'ordre des *Bacteriales*, bactéries apsorulées.

WINSLOW envisageait, nous l'avons dit dans l'historique, les *Pseudomonadaceae* comme « des bactéries asporulées, bâtonnets allongés, droits ou légèrement spirales ou incurvés. Un genre (*Mycoplana*) présente des ramifications. Habituellement mobiles, grâce à un cil polaire, ou plusieurs, disposés en touffes aux extrémités. Quelques espèces sont immobiles. Gram négatif (quelques Gram positif douteux ont été classés dans le genre *Pseudomonas*). Poussent bien et rapidement à la surface des milieux ordinaires, exception faite pour *Methanomonas* et quelques vibrions cellulolytiques.

» Ils sont aérobies préférentiels, quelques-uns seulement, dont *Desulfovobrio*, sont anaérobies. On les rencontre aussi bien sur le sol, les eaux, les plantes ou les animaux. Ils peuvent être pathogènes pour ces deux derniers. »

Le « *Bergey's Manual* » accepte encore telle qu'elle est cette définition.

Pour J. MAGROU et A. PRÉVOT (1948), les *Pseudomonadaceae* sont « des cellules allongées, bâtonnets droits et incurvés, asporulés, division transversale ». Formes pseudoramifiées dans le genre *Mycoplana*.

Gram négatif, mobiles, grâce à des cils polaires ou, plus rarement, péritriches. Quelques espèces immobiles.

Germes aquatiques ou terrestres, quelques espèces parasites des plantes ou des animaux.

Poussent bien sur les milieux ordinaires, aérobies facultatifs.

Cette définition plus restrictive fait déjà ressortir que les anaérobies doivent être exclus de la famille des *Pseudomonadaceae*.

Les bactéries spiralées, les vibrions, les Gram douteux ne peuvent pas davantage y trouver place. On y accepte les bacilles munis de cils péritriches.

La définition française est donc beaucoup plus concise et évite les dispersions consécutives à l'admission des *Spirilles* et des *Vibrio*.

On a regretté qu'il n'ait pas été fait mention de la chromogénèse, l'un des caractères dominants de la famille des *Pseudomonadaceae*. Compte tenu de cette remarque, on peut donc proposer la définition nouvelle suivante qui nous servira de fil directeur : *Pseudomonadaceae*.

Nouvelle définition : cellules microbiennes allongées, bâtonnets droits ou très légèrement incurvés. Formes coccoïdes, très courtes, assez fréquentes. Polymorphisme accentué dans les vieilles cultures. Division transversale.

Mobiles grâce à des cils polaires ou péritriches, nombreuses espèces immobiles. (Ces espèces immobiles sont fréquemment très courtes.)

Toujours Gram négatif. Pas de spores. Quelques espèces capsulées. Aérobies préférentiels.

Cultivent aisément sur les milieux ordinaires et souvent en milieux pauvres.

Un certain nombre d'espèces élaborent des pigments bleus, verts ou jaunâtres, solubles et fluorescents, d'autres des pigments insolubles jaunes, rouges ou violets.

On rencontre les *Pseudomonadaceae* sur le sol, dans les eaux douces ou salées, sur les plantes terrestres ou aquatiques.

Nombreuses espèces phytopathogènes, germes, intéressant encore aussi bien la pathologie humaine que vétérinaire.

Quelques spécimens sont luminescents, cellulolytiques, chitinolytiques. Très répandus dans la nature.

Cette définition est à peu de chose près la réplique de celle de J. MACROU et A. PRÉVOT. Elle élimine les *Spirilles*, les *Vibrio*, les anaérobies, les Gram positifs. Elle prend en considération les espèces à ciliation péritriche. Enfin, elle met l'accent sur la fréquence des formes coccoïdes et la chromogénèse. Ce dernier caractère méritait d'être souligné puisque, avons-nous dit, plus de 50 % des *Pseudomonadaceae* élaborent un pigment.

On suivra plus commodément les conceptions américaine et française en inscrivant sur deux colonnes parallèles les directives respectives des deux classifications, tout au moins dans la mesure où les divergences ne seront pas trop importantes :

« Bergey's Manual »
(1948)

Classe : *Schizomycètes*.
Ordre I : *Eubacteriales*.
Sous-ordre : *Eubacteriineae*.
Famille II : *Pseudomonadaceae*.

J. MACROU et A. PRÉVOT
(1948)

Embranchement : *Schizomycètes*.
Sous-embranchement : *Eubacteriales* asporulées.
Ordre : *Bacteriales*.
Famille IV : *Pseudomonadaceae*.

Nous ne définirons pas ici, de nouveau, la famille, puisque nous avons pris position sur ce premier point :

Tribu : *Pseudomonadaceae*.

Tribu : *Pseudomonadaceae*.

KLUYVER et van NIEL.

KLUYVER et van NIEL.

Cette tribu groupe tous les bâtonnets droits ou ramifiés de la famille bactéries du sol et de l'eau. Quelques espèces pathogènes pour l'homme et les animaux. Produisent un pigment hydro-soluble qui diffuse dans le milieu en lui donnant une teinte bleu-vert ou jaune-vert.

Sans modifications.

Tribu divisée en six genres : *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Methanomonas*, *Acetobacter*, *Protaminobacter*, *Mycoplana*.

La tribu est divisée en six genres et un sous-genre : *Pseudomonas*, *Phytobacterium*, *Agrobacterium*, *Xanthomonas*; Sous-genre : *Cellulomonas*, *Erwinia*, *Aplanobacter*.

Genre I : *Pseudomonas*, Migula.

Genre I : *Pseudomonas*, Migula.

Bactéries monotriches, lophotriches ou immobiles. S'ils élaborent des pigments, ceux-ci sont verdâtres, fluorescents et hydrosolubles. Gram négatif sauf deux espèces: *vi-ciae* et *seminum*. Fermentent fréquemment le glucose, parfois avec gaz. Ne touchent pas le lactose. Les nitrates sont fréquemment réduits en nitrites, ammoniacque ou azote libre. Quelques espèces hydrolysent les graisses et attaquent les hydrocarbures. Sol, eaux, pathogènes pour les animaux. Quelques espèces halophiles sont retenues dans le genre bien que

J. MACROU et A. PRÉVOT adoptent pratiquement la même définition.

Il faut insister sur la production du pigment hydrosoluble diffusant dans le milieu et ajouter la possibilité de sécrétion de pigments rougeâtres, brun foncé et même noirâtre, solubles, diffusant dans le milieu. Il faut aussi dire le caractère parfois éphémère de la chromogénèse.

Enfin, de nombreuses espèces fermentent le lactose.

ne produisant pas de pigment hydrosoluble.

Genre II : *Xanthomonas* (DOWNSON).

Bactéries habituellement monotriches sécrétant un pigment jaune insoluble dans l'eau. Le lait devient alcalin. Production de H₂S. L'asparagine n'est pas une source de carbone ni d'azote suffisante. Acidifient les mono et disaccharides. Agents fréquents de la nécrose des plantes. Espèces type *X. hyacinthi* (Wakker), DOWNSON.

Genre II : *Phytobacterium* (J. MACROU et A. PRÉVOT).

Bâtonnets Gram négatif. Asporulés, mobiles. Cils polaires: un cil unique ou une touffe. Colonies blanchâtres. Pathogènes pour les plantes. Elles oscillent entre 0,5 et 2,5 microns.

Groupés en amas ou chaînettes. Cultivent entre 5° et 35°.

Optimum de croissance : 25-30°.

Tués à 50°.

Développement lent.

Pathogènes seulement pour les plantes.

Discussion. — Les auteurs français ont admis jusqu'ici le genre *Xanthomonas*, mais ils le situaient en quatrième position dans la tribu des *Pseudomonadaceae*. Nous le placerons dans la tribu des *Chromobacteriaceae*.

On a créé le genre *Phytobacterium* pour rassembler dans un groupe spécial les espèces phytopathogènes non chromogènes.

Nous y avons nous-même placé des espèces marines isolées, des algues. Mais nous avons dit plus haut notre souhait de voir réunis *Phytobacterium* et *Erwinia*.

En appendice du genre *Xanthomonas*, le « Bergey's Manual » cite quinze espèces qu'il qualifie de *Pseudomonas* en reconnaissant leur parenté avec les *Xanthomonas*. Quelques-uns de ces germes sont pathogènes pour les plantes bien qu'isolés de l'eau, du sol ou de sources similaires. Le pigment sécrété est jaune; il n'est pas soluble dans l'eau.

Ce caractère négatif extrêmement important n'empêche nullement les auteurs américains d'employer l'épithète de *Pseudomonas*.

Les bactéries décrites dans cet appendice par le « Bergey's Manual » sont, en général, des *Flavobacterium*.

Genre III : *Methanomonas* (Orla JENSEN).

Bactéries monotriches capables de puiser leur énergie dans l'oxydation du méthane en CO₂ et H₂O.

Espèce-type : *M. méthanica* (Sohnngen) Orla JENSEN.

Genre III : *Agrobacterium* (CONN).

Bâtonnets asporulés, Gram négatif, mobiles. Cils polaires. N'acidifient pas les milieux courants.

En milieux synthétiques donnent du CO₂ en assez grande quantité. Cultures blanc sale ou légèrement rosées.

Utilisent l'N ammoniacal du sol. Racines des plantes, agents d'hyperplasies. Type *Agr. tumefaciens*.

Discussion. — Pour J. MAGROU et A. PRÉVOT, les *Methanomonas* d'Orla JENSEN appartiennent à la famille des *Proteobacteriaceae*.

En raison de leur métabolisme très spécial, ils ont été groupés auprès des *Hydrogenomonas*, *Carboxydomonas*, *Nitrosomonas*, etc.

Pour le « Bergey's Manual », le genre *Agrobacterium* de Conn appartient à la famille des *Rhizobiaceae*.

Genre IV : *Acetobacter* (BEIJERINCK).

Ce terme apparaît, dès 1898, avec *Acetobacter aceti*, synonyme du *Bacterium aceti* de Hansen.

BEIJERINCK mentionne encore ce nom en 1900.

Genre IV : *Xanthomonas* (DOWNSON).

Même définition que précédemment (Genre II de la classification de Bergey).

Sous-genre *Cellulomonas*.

J. MAGROU et A. PRÉVOT.

FUHRMANN, en 1905, l'accepte tel quel. Il a cependant de multiples synonymes : *Ulvinia*, *Mycoder*, *Erma*, *Urubina*, *Bacteriospis*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Acetimonas*, etc.

En 1935, un Japonais, Asai, a proposé la création du sous-genre *Euacetobacter* et *Acetogluconobacter* qui n'ont pas été retenus.

Bactéries de forme ellipsoïdale ou bâtonnets allongés, disposés par paires ou en chaînettes plus ou moins longues. Mobiles grâce à des cils polaires ou immobiles. Formes d'invololution sphériques, allongées, filamenteuses, incurvées, ramifiées. Les éléments jeunes sont Gram négatif, les éléments âgés Gram douteux. Aérobie obligatoires. La réaction des catalases est fortement positive en règle générale. Oxydent de nombreux composés organiques acides. Les produits d'oxydation courante sont l'acide acétique en partant de l'éthylalcool, les acides gluconique et céto-gluconique, en partant du glucose.

Ils donnent de la dihydroxyacétone aux dépens du glycérol, etc.

Les exigences nutritives sont variables. Le milieu de choix pour les cultures est représenté par l'autolysat de levures additionné d'alcool ou d'une substance analogue oxydable.

Bactéries voisines dans *Xanthomonas* mobiles, donnant des colonies jaunâtres et attaquant la cellulose. Ces germes cultivent assez mal sur les milieux usuels.

Ce genre a été reporté dans la tribu des *Chromobacteriaceae* et nous l'avons réduit aux espèces chromogènes sur des espèces à colonies incolores.

La coloration jaune des colonies entraînait des confusions avec les *Flavobacterium*.

On peut, plus simplement, considérer les *Xanthomonas* comme des *Flavobacterium* phytopathogènes que l'on place dans la tribu des *Chromobacteriaceae*.

Optimum de température :
variable selon les espèces.

Très répandus dans la nature.

Type *Acetobacter aceti* (Kunt-
zing) BEIJERINCK.

Discussion. — Le « Bergey's Manual » considère les *Cellulomonas* comme un genre et non comme un sous-genre. Il les place dans la famille des *Bacteriaceae* qui groupe des espèces Gram positif et Gram négatif. Position absolument inacceptable dans la taxinomie française qui n'admet dans la famille des *Bacteriaceae* que des espèces Gram positif.

Les *Cellulomonas* ayant une écologie, une biochimie et un pouvoir pathogène très proches des *Xanthomonas*, la position de la classification française était des plus logiques.

Au cours des révisions d'espèces que nous avons été appelé à réaliser, il est apparu nécessaire de reconsidérer la raison d'être du genre *Cellulomonas*. Nous avons, en effet, souligné que l'on retrouve la cellulolyse comme la chitinolyse, la lipolyse, la luminescence, la protéolyse, chez des genres très différents (*Achromobacter*, *Phytobacterium*, *Vibrio*, *Enterobacteriaceae*, et parle-t-on pour autant de *Proteomonas*, *Lipomonas*, *Gelatinomonas* ?).

L'homogénéisation de la systématique, qui reste notre souci constant, imposa la suppression pure et simple du genre *Cellulomonas*. Les espèces chromogènes qui le constituaient seront mieux placées dans la tribu des *Chromobacteriaceae* et les espèces non chromogènes dans la tribu des *Achromobacteriaceae*, ces espèces non chromogènes prendront place dans le genre *Erwinia*. Il suffira de mentionner le caractère *cellulolytique* de ces germes dans les clés de détermination. L'attaque de la cellulose ne justifie pas à elle seule la constitution d'un genre.

Enfin, le genre *Xanthomonas* ne comprenant que des espèces à pigment jaune est reporté, lui aussi, dans la tribu des *Chromobacteriaceae*.

Le genre *Acetobacter* appartient, pour l'école française, à la tribu des *Acetobacteriaceae*, famille des *Protobacteriaceae*.

Si l'on considère la morphologie et le comportement très spécial de ces bactéries, on ne peut les admettre parmi les *Pseudomonadaceae* dont elles ne présentent pratiquement aucun des caractères généraux.

Genre V : *Protaminobacter*
(van DOOREN, de JONG).

Bactéries mobiles ou immobiles, capables d'hydrolyser les alkylamines.

Pigmentation fréquente.

Sol et eaux.

Type *Pr. alboflovum*.

Genre V : *Erwinia* (WINSLOW).

Genre assez hétérogène comprenant des bactéries Gram négatif asporulées, mobiles, par cils pétriques.

Exigent pour cultiver de l'N organique.

Attaquent les glucides avec ou sans gaz.

Phytopathogènes.

Discussion. — Les *Erwinia* sont encore, par certains, considérées comme appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* (KAUFFMANN).

Nous avons donné les raisons pour lesquelles les *Erwinia* ne devraient plus figurer dans les classifications de *Enterobacteriaceae*; on regrette de les y trouver encore.

Les *Erwinia* chromogènes à pigment jaune, telles que *Er. erivanensis* et *Er. Flavida*, sont très proches de *Fl. acidificum*.

Les trois germes donnent des colonies jaunes, sont indoligènes, liquéfient la gélatine, attaquent le glucose, le lactose, sont sans action réductrice sur les nitrates. Il faut encore signaler la grande similitude existant entre : *Er. militica* et *Fl. typhi*, *Er. vitivora* et *Fl. suaveolens*, *Er. cassaveae* et *Fl. rhenanum*, *Er. salicis* et *Fl. proteus* et *Fl. tenue*.

Nous avons donc retiré ces *Erwinia* de la nomenclature. Pour les mêmes raisons de chromogénèse, *Er. mangiferae*, *Er. citrimaculans*, *Er. lathyri* ont été reportées dans le genre *Xanthomonas* réservé aux chromogènes phytopathogènes.

Quant au genre *Protaminobacter*, J. MACROU et A. PRÉVOT l'ont conservé, mais ils le situent un peu plus loin. Il formera, en effet, le genre III de la tribu III consacrée aux *Chromobacteriaceae*. Cette position est imposée par le pouvoir chromogène de ces bactéries.

Genre VI : *Mycoplana* (GRAY et THORNTON).

Bactéries parfois ramifiées en cultures jeunes. Capables d'utiliser les phénols et les composés aromatiques comme seule source d'énergie. Cultivent aisément sur les milieux usuels.

Genre VI : *Aplanobacter* (Smith) J. MACROU et A. PRÉVOT, Emend.

Ce sont des phytobactéries immobiles dont elles ont, l'immobilité mise à part, tous les caractères généraux.

Certaines étaient douées d'une chromogénèse marquée.

Nous les avons éliminées et reclassées dans le genre *Empedobacter*.

Discussion. — Le « Bergey's Manual » rappelle que SMITH, en 1905, avait déjà proposé le terme d'*Aplanobacter* à propos de bactéries phytopathogènes, mais il confond plus ou moins ces germes avec les *Bacillus* de Cohn.

J. MACROU et A. PRÉVOT ont amendé la définition de SMITH. Ils donnent à ces germes la place qui leur convient. En les assimilant à des *Bacillus*, on les mettait sur le même pied que tout le groupe des bactéries Gram positif sporulées dont *Bacillus subtilis* est le représentant-type.

Rappelons que nous avons éliminé les chromogènes de ce genre pour en constituer un genre nouveau voisin des *Flavobacterium* auquel nous avons donné le nom de *Empedobacter* (stables). Leur chromogénèse pouvait, en effet, entraîner à des erreurs de diagnostic. Ce caractère impose, du reste, leur classement parmi les *Chromobacteriaceae*.

Enfin, les *Mycoplana*, de la classification américaine, appartiennent, dans la systématique française, au groupe des *Achromobacteriaceae*, où nous les retrouverons dans un instant.

Tribu II.

Spirilleae (KLUYVER et van NIEL).

Bactéries incurvées, plus ou moins spiralées.

Six genres : *Vibrio*, *Desulfovibrio*, *Cellvibrio*, *Cellfalcicula*, *Thiospira*, *Spirillum*.

Tribu II.

Achromobacteriaceae (J. MAGROU et A. PRÉVOT).

Pseudomonadaceae n'élaborant pas de pigments et ne renfermant pas d'espèces phytopathogènes.

Mobiles ou non.

Quelques espèces sont pathogènes pour l'homme et les animaux. Très répandus dans la nature. Trois genres : *Achromobacter*, *Acinetobacter* et *Mycoplana*.

Discussion. — A partir de cette deuxième tribu, les divergences entre les classifications interdisent toute comparaison.

Le fossé est irrémédiablement creusé, les classifications n'auront, désormais, rien de commun, car le désaccord porte non seulement sur des genres et des familles, mais sur des ordres et même des classes, ce qui est plus grave.

Rien ne peut justifier la position adoptée par les auteurs américains qui nous conduisent des *Pseudomonas* aux *Spirillum* dans une même famille et n'hésitent pas à grouper dans la même tribu des sporulés et des asporulés. Il y a mieux encore, puisque le « *Bergey's Manual* » place des *Flavobacterium*, essentiellement chromogènes, dans la famille des *Achromobacteriaceae*.

Dans la systématique française :

— Le genre *Vibrio* appartient à l'ordre des *Spirillales*, famille des *Vibrionaceae* (A. PRÉVOT).

— *Cellvibrio* et *Cellfalcicula* à la famille des *Vibrionaceae*.

— *Thiospira* à la classe des *Thiobacterales*, famille des *Achromatiaceae*.

— *Spirillum* à l'ordre des *Spirillales*, famille des *Spirillaceae*.

Nous n'envisagerons donc plus maintenant que la systématique française et préciserons dans les discussions la place donnée par les auteurs américains aux genres qui seront définis.

TRIBU II. — *Achromobacteriaceae*.

GENRE I. — *Achromobacter* (Bergey) J. BRISOU et A. PRÉVOT, Emend. — Bâtonnets Gram négatif mobiles par cils péritriches, asporulés, cultivent facilement sur les milieux usuels.

N'élaborent jamais de pigments sur aucun milieu et quelles que soient les conditions de culture.

Optimum de croissance aux environs de 30°.

Certaines espèces barophiles, cryophiles et halophiles, ou phosphorescentes.

Habitat : le sol et les eaux.

Peuvent intéresser la pathologie humaine et vétérinaire.

Discussion. — Pour les auteurs américains, les *Achromobacter* constituent le genre II de la famille des *Achromobacteriaceae* de Breed qui est ainsi définie :

« Bâtonnets assez petits et assez uniformes. Pas de ramifications Gram négatif, rarement Gram positif. Cils péritriches ou immobiles. Cultivent sur gélose, non chromogènes, ou pigments gris jaunâtre, brun jaunâtre ou orange.

Ces pigments ne diffusent pas dans le milieu.

Caractérisés par leur inaptitude ou leur faible pouvoir à attaquer les glucides. Peuvent acidifier les sucres, mais sans gaz. Action variable sur les nitrates, la gélatine.

Ne liquéfient pas la gélose, n'attaquent pas la cellulose et ne sont pas phosphorescents.

Le lait tournesolé peut être légèrement acidifié mais ne coagule pas. Habituellement, la réaction ne change pas ou devient alcaline.

On les trouve dans les eaux salées, les eaux douces, le sol, et elles sont parfois parasites. On peut y rencontrer des espèces phytopathogènes.

Cette famille comprend trois genres : *Alcaligenes*, *Achromobacter* et *Flavobacterium*. »

Comme on peut s'en rendre compte, cette définition est beaucoup trop large. Elle présente aussi des contradictions évidentes qui ont entraîné la situation invraisemblable des *Flavobacterium*.

En groupant les bactéries non chromogènes en une tribu de la famille des *Pseudomonadaceae*, on constitue un ensemble homogène qui se résume aux *Achromobacter* mobiles, aux formes immobiles et aux *Mycoplana*. Toutes les bactéries « chromogènes » seront rassemblées, comme nous le verrons dans une autre tribu.

Au genre *Achromobacter*, nous avons, depuis 1952, rattaché l'espèce *Fecalis alcaligenes* et les espèces voisines mobiles restées jusqu'ici inclassées ou en position d'attente, tantôt chez les *Enterobacteriaceae*, tantôt chez les *Vibrio* ou les *Brucella*.

THOMAS, GALARNEAULT et LEIFSON (1956), s'appuyant sur la seule morphologie et la disposition des cils, ont cru utile la création du genre « *Lophomonas* ». Les vingt-six souches étudiées par ces auteurs ont, bien entendu, de multiples affinités biochimiques, toutes bleussent le lait tournesolé, sont dépourvues de pouvoir glucidolytique, produisent de l'hydrogène sulfuré. Leur activité sur le citrate de soude varie avec les espèces. Aucun de ces germes ne liquéfie la gélatine, n'hydrolyse l'urée. Il n'y a pas de souches indologènes ou hémolytiques. On a pu enfin distinguer six variétés antigéniques O et H. (On se reportera au chapitre III pour la justification de la position prise ici.)

La simple considération de l'appareil ciliaire ne justifie pas la création d'un genre. Les souches que les auteurs ont étudiées entrent très aisément dans le genre *Achromobacter* défini dans notre classification. On a ici affaire à des *Achromobacter*

non glucidolytiques, sans action sur la gélatine, donnant une réaction des nitrites positive. On connaît : *Achr. sevanense* et *Achr. dacunhae* comme types de microbes.

GENRE II. *Acinetobacter* (J. BRISOU et A. PRÉVOT, 1954). — Ce genre nouveau a été envisagé pour séparer les *Achromobacter* immobiles, coccoïdes, si fréquents, des *Achromobacter* mobiles. On a groupé sous cette rubrique tous les anciens *Achromobacter* immobiles. Eux aussi cultivent aisément sur les milieux courants.

On en compte quelques espèces pathogènes.

Les colonies restent toujours grisâtres ou blanchâtres quelles que soient les conditions de culture.

GENRE III. *Mycoplana*. — C'est le genre défini par GRAY et THORTON, en 1928, que nous avons déjà décrit précédemment : genre VI de la classification américaine, tribu des *Pseudomonadaceae*.

Les *Mycoplana* n'étant jamais chromogènes trouvent ici une place plus logique que dans la précédente tribu.

TRIBU III. — *Chromobacteriaceae*.

Dans ce genre, J. MACROU et A. PRÉVOT ont groupé les bactéries Gram négatif, asporulées, caractérisées par l'élaboration de pigments violets, jaunes, orange ou rouges, le plus souvent insolubles dans l'eau et colorant fortement les colonies sur gélatine ou pomme de terre.

Cette tribu comprenait quatre genres : *Chromobacterium*, *Flavobacterium*, *Protaminobacter* et *Serratia*.

GENRE I. — *Chromobacterium* (BERGONZINI). — Bâtonnets de 0,4 à 0,8 μ sur 1, 0 à 5. Mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles. Gram négatif. Elaborent un pigment violet soluble dans l'alcool, mais insoluble dans l'eau ou le chloroforme.

Cultivent sur les milieux usuels. Fermentent certains sucres : le glucose, parfois, le maltose, jamais le lactose. Géla-

tine liquéfiée. Ne produisent pas d'indole. Les nitrates sont ordinairement réduits en nitrites.

Optimum de croissance : 20-25°, mais parfois cultivent bien à 37°.

Habituellement, saprophytes du sol et des eaux.

Il faut ajouter à cette définition que certaines espèces peuvent être pathogènes pour l'homme et les animaux; c'est le cas de *Chromobacterium violaceum* et des quelques variétés (*manileae*).

Discussion. — Dans la systématique américaine, les *Chromobacterium* constituent le genre III de la famille des *Rhizobiaceae* de Conn. Ils voisinent avec les *Rhizobium* et les *Agrobacterium*.

Notons, au passage, que les Anglais, avec TOPLEY et WILSON, classent les *Chromobacterium* dans la famille des *Bacteriaceae*, tribu des *Chromobacteriaceae*, et qu'ils groupent dans ce genre toutes les bactéries colorées Gram négatif, que le pigment soit violet, rouge ou jaune.

Pour TOPLEY et WILSON, la famille des *Pseudomonadaceae* ne comprend qu'un genre : *Pseudomonas*.

On en peut admettre une telle simplification.

GENRE II. *Flavobacterium* (BERGEY et all.). — Bâtonnets de taille moyenne sécrétant un pigment jaune ou orange. Mobiles grâce à des cils péritriches ou immobiles. Généralement Gram négatif. Faible pouvoir d'attaque sur les hydrates de carbone. Pouvant acidifier certains hexoses, mais sans gaz. On les rencontre dans l'eau et le sol.

Cette définition ne peut être acceptée sans réserves.

Discussion. — Il est nécessaire tout d'abord de séparer les espèces mobiles et immobiles qui ne peuvent, selon notre nomenclature, coexister dans un même genre.

Il faut, en outre, éliminer les espèces Gram positif. Il existe, en effet, bon nombre de bactéries chromogènes Gram positif, non sporulées. La taxinomie française les groupe dans le genre *Bacterium*. Soulignons en passant que ces germes chromogènes Gram positif sont encore souvent confondus avec des *Corynebacterium*.

Il en résulte que les *Flavobacterium* répondent à la définition suivante : « bactéries asporulées, Gram négatif, se présentant sous l'aspect de bâtonnets allongés, droits, à extrémités parfois effilées. Mobiles avec ciliation pérित्रiche ».

Ces bactéries donnent sur gélose, gélatine ou pomme de terre des colonies jaune, orange ou jaune de chrome. Le pigment ne diffuse pas dans le milieu ou cette diffusion reste très discrète et ne se produit que dans les cultures âgées. Enfin, on sait maintenant que les pigments sont des caroténoïdes.

Ces germes attaquent certains glucides, mais ne produisent pas de gaz, à quelques exceptions près.

Le plus souvent saprophytes ; quelques rares espèces pathogènes.

GENRE III. *Xanthomonas*. — Ce genre, qui était autrefois dans la première tribu, complétée du sous-genre *Cellulomonas*, a dû être remanié en raison du mélange d'espèces chromogènes à pigment jaune, et d'espèces non chromogènes qui s'y trouvaient à tort rassemblées.

Les *Xanthomonas* se réduisent donc à des bâtonnets mobiles, Gram négatif, phytopathogènes, élaborant un pigment jaune ou jaune orange, analogue à celui des *Flavobacterium*.

Il est donc normal de placer de telles bactéries dans la tribu des *Chromobacteriaceae*, immédiatement après les *Flavobacterium*.

GENRE IV. *Empedobacter* (J. BRISOU, 1956). — Nous proposons ce nouveau genre pour regrouper les *Flavobacterium immobilis*.

Tous les autres caractères sont identiques à ceux que nous venons d'énumérer ci-dessus.

GENRE V. *Protaminobacter*. — On ne reprendra pas ici la définition donnée plus haut dans le genre IV de la première tribu de la systématique américaine.

Nous avons déjà indiqué qu'il vaut mieux placer ce genre dans la tribu des *Chromobacteriaceae*, puisqu'il y a sécrétion de pigment. Les colonies sont jaunes ou rosées. Ce caractère est parfois très éphémère. Il s'agit, en somme, d'un genre de transition comme il en existe beaucoup en microbiologie. On souhaiterait de le voir disparaître car, en fait, il se résume à deux espèces.

GENRE VI. *Serratia* (BIZIO, Emend., BREED et BREED). — Ce genre comprend des bâtonnets de petite taille, aérobies, liquéfiant rapidement la gélatine, réduisant les nitrates en nitrites, Gram négatif, ou munis de cils péritriches, donc mobiles et produisant un pigment rouge. Il peut exister des spécimens rose brillant et des espèces ayant perdu leur caractère chromogène. Coagulent et digèrent le lait. Liquéfient le sérum coagulé. Les espèces-type produisent CO₂ et fréquemment H₂ à partir du glucose ou d'autres sucres, ainsi que de l'acide acétique, formique, succinique, lactique, de l'acétylméthylcarbinol et 2-3-butylène-glycol.

Saprophytes très répandus dans la nature.

Nous n'avons rien à changer à cette définition, sinon que le pigment est un pyrrylméthène.

Pour les auteurs américains, les *Serratia* appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et forment la tribu III « *Serratia* » avec un seul genre, celui dont on vient de rapporter la définition.

On cherche les raisons de cette position taxinomique prise par le « Bergey's Manual ». Nous en avons déjà discuté brièvement dans l'historique.

On ne rencontre pratiquement jamais de *Serratia* dans l'intestin, pourquoi en faire des *Enterobacteriaceae* ? Ces germes n'ont aucune raison de voisiner avec les *Proteus* ou les *Salmonella*.

Enfin, ces microbes sont essentiellement des chromogènes.

Or, aucune *Enterobacteriaceae* n'élabore de pigment.

On peut admettre certains caractères cultureux identiques : les *Serratia*, comme certains *Proteus*, liquéfient la gélatine ou, comme les coliformes, attaquent le lactose en dégageant des gaz, mais la microbiologie nous offre de très nombreux germes dotés des mêmes caractéristiques.

La chromogénèse et les caractères écologiques des *Serratia* sont si particuliers et si aisés à reconnaître qu'ils justifient une fois de plus la place qui leur a été assignée par les taxinomistes français.

Ainsi prend corps et homogénéité la famille des *Pseudomonaceae*. Les sporulées (*Desulfovibrio*), les anaérobies, les Gram positif, les vibrions et spirilles en sont exclus. Par contre, des bactéries Gram négatif, asporulées, chromogènes ou non, y trouvent une place toute naturelle et conforme à la taxinomie.

Un diagramme donne une vue générale et concrète de cette famille. Le voici en tableau :

FAMILLE DES *PSEUDOMONACEAE*

TRIBUS.

Pseudomonadaceae.

- I. *Pseudomonas*,
- Phytobacterium*,
- Agrobacterium*,
- Erwinia*,
- Aplanobacter*.

Achromobacteriaceae.

- I. *Achromobacter*.
- II. *Acinetobacter*.
- III. *Mycoplana*.

Chromobacteriaceae.

- I. *Chromobacterium.*
- II. *Flavobacterium.*
- III. *Xanthomonas.*
- IV. *Empedobacter.*
- V. *Protaminobacter.*
- VI. *Serratia.*

A été transféré : le genre *Xanthomonas* dont les specimens chromogènes doivent être inclus dans la tribu des *Chromobacteriaceae*.

Le genre *Cellulomonas* est supprimé. Ses représentants sont répartis dans différents genres selon leurs caractères.

Ont été créés : les genres *Acinetobacter* (*Achromobacteriaceae* immobiles), *Empedobacter* (*Chromobacteriaceae* jaunes immobiles).

CLES DE DETERMINATION DES *PSEUDOMONADACEAE*

Caractères d'orientation. — Bacilles Gram négatif, asporulés, mobiles ou non, souvent chromogènes.

Formes allongées, à extrémités effilées ou, au contraire, bacilles trapus ou images coccoïdes. Les vacuoles intracellulaires ne sont pas rares.

Cultures faciles à 37° ou au-dessous. L'optimum de croissance se situe fréquemment aux environs de 20°.

Si les espèces chromogènes sont aisées à reconnaître, il n'en est pas de même pour les espèces non colorées souvent confondues avec des *Enterobacteriaceae* ou des *Neisseriaceae*. On compte, à l'heure actuelle, plus de quatre cents espèces de *Pseudomonadaceae* : habitat très varié.

A) SÉCRÉTION DE PIGMENT.

1° Pigment fluorescent, vert, bleuâtre, brun, rougeâtre, diffusant dans le milieu du groupe des phénazines. Colonies non teintées, gris sale, mobiles : *Pseudomonas*.

2° Pigment jaune franc, jaune brillant, jaune d'or ou orange (caroténoïdes).

a) Mobiles : *Flavobacterium*, *Xanthomonas*;

b) Immobiles : *Empedobacter*.

3° Pigment violet, bleu violet, germes mobiles : *Chromobacterium* (dérivés pyrroliques).

4° Pigment rouge vif, corail, carmin, rouge brique, germes mobiles : *Serratia* (dérivés pyrroliques).

B) PAS DE PIGMENTATION DES COLONIES NI DU MILIEU.

Colonies opaques ou blanc grisâtre ou même parois transparentes irisées et bleutées comme certaines colonies d'entérobactéries.

Germes mobiles : *Phytobacterium*, *Agrobacterium*, *Erwinia*.

Germes immobiles : *Aplanobacter*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Mycoplana*.

Ces caractères ne permettent, bien entendu, qu'une approximation.

Le diagnostic des germes n'élaborant que discrètement leur pigment, de germes cultivant en donnant des colonies grisâtres parfois un peu rosées vers le trois ou quatrième jour est délicat.

On soulignera aussi le caractère éphémère et irrégulier de la chromogénèse. Le pigment, très net lors des premières cultures, peut disparaître vers le quatrième ou cinquième repiquage pour ne plus reparaitre. Certains germes ne sécrètent le pigment que sur un ou deux milieux. Nous avons eu l'occasion d'isoler à deux reprises un *Pseudomonas* qui ne sécrétait son pigment que sur la gélatine et le lait. Un *Flavobacterium* ne donnait une

culture colorée en jaune orange que sur la pomme de terre glycélinée.

HAYNES, en 1941, a proposé quelques tests particuliers pour permettre la caractérisation de ces *Pseudomonas* ayant perdu leur chromogénèse. Ce sont :

1° La croissance à 41°.

2° L'oxydation du gluconate de potassium avec production d'un composé réducteur en culture agitée. Ce produit réducteur est le céto-2-gluconate de potassium.

3° En culture non agitée, production d'un composé visqueux dans un milieu de gluconate de potassium comme source principale de carbone. Ce dernier test resterait le plus fidèle et l'un des plus pratiques.

Il faut noter que le premier (croissance à 41°) ne peut être utilisé avec les espèces isolées, des eaux, du sol ou des plantes qui, pour la plupart, ne cultivent qu'aux environs de 20° et au-dessous.

Le troisième test de HAYNES reste le plus pratique.

Clés de détermination

TRIBU I. *Pseudomonadeae*.

GENRE I. *Pseudomonas* (MIGULA). — Bâtonnets monotriches ou lophotriches. Asporulés. Gram négatif.

Pigment fluorescent bleu, vert, brun jaune ou rouge, rarement noir, diffusant dans le milieu, du groupe des Phénazines.

Fermentation fréquente du glucose. Production de gaz rarement.

Odeur de triméthylamine, de coumarine, aromatique, fréquente. Réduction des nitrates en nitrites, NH_3 ou N .

(La réaction des nitrites est souvent éphémère en raison du stade poussé de réduction.)

Attaque fréquente des graisses et des hydrocarbures.

Sol, eaux douces ou salées, parfois pathogènes pour l'homme et les animaux.

Espèce type *Pseudomonas aeruginosa*.

A) Culture facile à 37°.

1° *Gélatine liquéfiée*. — Réaction des nitrites négative.

a) Lait coagulé : *Ps. aeruginosa*.

b) Lait non coagulé, pigment fluorescent insoluble dans le chloroforme : *Ps. Jaegeri*; pigment vert émeraude : *Ps. smaragdina*.

c) Réaction des nitrites positive : *Ps. sauromali*.

2° *Gélatine non liquéfiée*. — Réaction des nitrites positive.

a) Pigment fluorescent. Lait inchangé : *Ps. oleovorans*; pigment bleu vert. Lait alcalinisé : *Ps. incognita*, *Ps. oxalaticus*.

Réaction des nitrites négative. Pigment bleu vert foncé. Lait alcalinisé : *Ps. convexa*, *Ps. mildenbergii*.

B) Espèces cultivant plus difficilement ou pas du tout à 37°.

PIGMENT VERT OU JAUNE VERT :

A) Gélatine liquéfiée.

1° Réaction des nitrites positive.

a) Production d'indole : *Ps. myxogenes*.

b) Lait coagulé :

Ps. chlororaphis.

Ps. septica.

Ps. boreopolis.

Ps. chlorina.

Ps. fluorescens.

Ps. lemonnieri.

2° Réaction des nitrites négative.

a) Lait alcalinisé :

Ps. pavonacea.

Ps. effusa (cellulolytique).

Ps. reptilovorans.

b) Lait inchangé :

Ps. syncyanea.

Ps. viscosa.

c) Lait coagulé :

Ps. schuytkillensis.

d) Indologènes :

Ps. centrifugans.

Ps. capsulata.

Ps. dermatogenes.

Ps. terrestralginum.

B) *Gélatine non liquéfiée.*

1° *Réaction des nitrites positive :*

Ps. putida.

Ps. scissa.

Indologène :

Ps. striata.

Gaz en présence de nitrates :

Ps. denitrificans.

Sérum coagulé digéré :

Ps. eisenbergii.

2° *Réaction des nitrites négative.*

Glucose acidifié :

Ps. ovalis.

Ps. solaniolens.

Glucose non acidifié :

Ps. mori.

ESPÈCES PHYTOPATOGÈNES. — PIGMENT FLUORESCENT.

A) *Gélatine liquéfiée et saccharose acidifié.*

1° *Réaction des nitrites positive.*

H₂S +, indole + :

Ps. xanthochlora.

H₂S +, pas d'indole :

Ps. martyniae.

Ni H₂S, ni indole :

Ps. striafaciens.

Ps. tomato.

2° Réaction des nitrites négative.

a) Indole + :

Ps. viridilivida.
Ps. maculicola.
Ps. erodii.
Ps. rimaejacens.
Ps. papulans.

b) H₂S + et parfois indole :

Ps. marginata.
Ps. atrofaciens.
Ps. pseudozooglaeae.

c) Ni indole, ni H₂S :

Ps. desaiana.
Ps. aceris.
Ps. apii.
Ps. angulata.
Ps. tabaci.
Ps. primulae.
Ps. coronofaciens.
Ps. lachrymans.
Ps. phaseolicola.
Ps. pisi.
Ps. syringaeae.
Ps. cumini.
Ps. mors prunorum.
Ps. lapsa.
Ps. delphinii.

B) Gélatine liquéfiée. Saccharose non acidifié.

1° Réaction des nitrites positive.

a) Indole + :

Ps. setariae.
Ps. bowlesiae.
Ps. rhizoctonia.

b) Pas d'indole :

Ps. intybi.

Ps. marginalis.

Ps. matthiolae.

2° Réaction des nitrites négative.

Pas d'indole :

Ps. polycolor.

Ps. viridiflava.

Ps. ananas.

Ps. ligustri.

Ps. sesami.

Ps. panacis.

Trace d'indole :

Ps. tolaasi.

3° Action sur le saccharose imprécise.

Ps. barkeri.

Ps. gladioli.

Ps. mellea.

C) Gélatine non liquéfiée. Saccharose acidifié.

1° Réaction des nitrites positive.

H₂S et indole + :

Ps. aleuritidis.

2° Réaction des nitrites négative.

Indole + :

Ps. savastoni.

Ps. tonelliana.

Ps. berberidis.

Ps. glycinea.

D) Saccharose non acidifié.

1° Réaction des nitrites positive.

Indole + :

Ps. edgworthiae.

2° Réaction des nitrites négative.

H₂S + :

Ps. nectarophila.

Indole + :

Ps. calendulae.

Ni H₂S, ni indole :

Ps. cichorii.

Ps. viburni.

Ps. medicaginis.

Ps. cissicola.

Imprécis :

Ps. Wieringae et *Calciprecipitans.*

PSEUDOMONAS ÉLABORANT UN PIGMENT BRUN SOLUBLE.

A) *Gélatine liquéfiée.*

1° Réaction des nitrites positive.

Ps. putrefaciens.

Ps. aliicola.

Ps. gardeniae.

Ps. caryophilli.

Ps. solanacearum.

Ps. aurantiacus.

2° Réaction des nitrites négative.

Ps. delphini.

Ps. nigrefaciens.

B) *Gélatine non liquéfiée :*

Indole + ou — :

Ps. rubefaciens.

Ni indole, ni H₂S :

Ps. ferruginea.

Il faut noter que les trois premiers germes sont très voisins sinon identiques. Ce ne sont que des variétés d'une même espèce.

Pseudomonas particuliers à l'eau de mer.

On a décrit une vingtaine de *Pseudomonas* isolés du milieu marin. La plupart des souches connues ont été décrites par ZOBELL et UPHAM en 1944.

Malheureusement, bon nombre de ces germes ne peuvent être acceptés dans le genre *Pseudomonas* en raison de la négativité du caractère essentiel du genre, tel que nous l'avons défini : la sécrétion d'un pigment soluble. Nous avons donc dû éliminer *Ps. oceanica*, *Ps. marinopersica*, *Ps. hypothermis*, *Ps. enalia*, *Ps. vadosa*, *Ps. coenobios*, *Ps. aestumarina*, *Ps. perfectomarinus*, *Ps. xanthochrus*, *Ps. azotogena*, *Ps. stereotropis* qui, pour la plus grande majorité, appartiennent aux genres *Flavobacterium*, ou *Achromobacter*.

En définitive, on ne retiendra ici que seize *Pseudomonas* authentiques isolés du milieu marin :

GÉLATINE LIQUÉFIÉE.

1° Réaction des nitrites positive.

H₂S +, urée hydrolysée :

Ps. proteus.

H₂S +, sucres fermentés :

Ps. felthami.

Ps. pleomorpha.

H₂S, aucun sucre fermenté :

Ps. gelatica.

Ps. viscosa.

2° Réaction des nitrites négative.

H₂S +, glucidolytique :

Ps. dispersa.

Ps. elongata.

Ps. floridana.

Ps. obscura.

Ps. periphyta.

Ps. cyanoïdes.

H₂S négatif :

Ps. membranula.

Ps. cyaneofuscus.

GÉLATINE NON LIQUÉFIÉE.

Réaction des nitrites positive :

Ps. neritica (H₂S + +).

Ps. sessilis.

CARACTÈRES IMPRÉCIS.

Gélatine liquéfiée.

Autres caractères inconnus :

Ps. fucicola.

Cellulolytique :

Ps. caesia.

Appendice :

Ps. rugosa.

Les tableaux que nous venons de donner portent à cent douze les *Pseudomonas* véritables, producteurs de pigment vert, bleu, jaunâtre ou brun solubles.

Si l'on se réfère au « Bergey's Manual », on dénombre 148 espèces et 85 en appendice, soit 234 classées dans la famille des *Pseudomonas*. D'autre part, l'appendice des *Eubacteriineae* en cite encore 80. Sous cette rubrique, ils voisinent avec des *Micrococcus*, des *Bacterium*, des *Vibrio*, *Yersina*, *Streptococcus*, dans un invraisemblable désordre. On en retire la pénible impression qu'un scribe aurait transcrit là des noms de bactéries sans aucun esprit de systématisation. Le chiffre des *Pseudomonas*, nous disons bien de ce seul genre, atteindrait alors 314.

Or, nous n'en trouvons que le tiers.

Il faudra, dans l'avenir, — et nous avons commencé ce travail — remonter aux sources, aux définitions et descriptions principales de chacun de ces germes, dont certains sont identiques. On pourrait donc encore réduire le bilan établi à l'heure actuelle.

Il est bien certain que beaucoup d'espèces décrites sous des noms différents sont identiques ou très proches. Certains travaux originaux remontant à plus de cinquante ans sont très difficiles à retrouver et les caractères biochimiques des microbes y sont incomplètement décrits.

En 1952, P. VILLECOURT, H. BLACHÈRE et G. JACOBELLI ont spécialement étudié les fluorescents du sol; ils ont donné une technique d'isolement utilisant un milieu à base de b-hydroxybutyrate de soude. Les auteurs ont repris un certain nombre de recherches déjà effectuées en 1943 par SELLEEN et tenté une systématique permettant une détermination rapide des fluorescents du sol.

P. VILLECOURT et ses collaborateurs font de sérieuses critiques, eux aussi, à la classification du « Bergey's Manual » considérée comme trop touffue. Ils soulignent que le test de la culture à 37° est sans intérêt.

Ils notent l'identité de *Ps. ovalis*, *Ps. convexa* et *Ps. mindenbergii*, de *Ps. schuyllkilliensis* et de *Ps. effusa*,

Ils basent enfin leur systématique sur quatre groupes que permet de sélectionner la culture sur le milieu au b-hydroxybutyrate de soude.

Il est certain que ces tests n'ont de valeur que pour les fluorescents du sol. Ils ne peuvent être appliqués à l'ensemble des *Pseudomonas*.

GENRE II. *Phytobacterium*. Genre proposé par J. MAGROU et A. PRÉVOT en 1948.

Caractères d'orientation.

Bâtonnets Gram négatif, asporulés, mobiles. Cils polaires. Cultures sur gélose : blanches ou grisâtres.

Pathogènes pour les plantes. On les rencontre sur le sol et dans les eaux. Nous en avons décrit quelques espèces dans le milieu marin. Elles furent, pour la plupart, isolées d'algues ou de boues marines.

Taille oscillant entre 0,5 et 2,5. Groupés en amas ou chaînettes.

De nombreuses souches donnent des colonies visqueuses butyreuses. Pas de pigments solubles. Parfois teinte sale des colonies.

Optimum de croissance aux environs de 2°-25°.

Tués à 50°. Ces germes cultivent lentement.

Les tableaux suivants résument l'ensemble des caractères essentiels des *Phytobacterium* :

PHYTOBACTERIUM ISOLÉS DES PLANTES.

A) *Gélatine liquéfiée.*

1° *Réaction des nitrites positive.*

H₂S +, indole + :

Phyt. fabae.

H₂S +, pas d'indole :

Phyt. zingiberi.

Phyt. cannae.

Phyt. manihotis.

Ni indole, ni H₂S, lait inchangé :

Phyt. castaneae.

2° Réaction des nitrites négative.

H₂S + :

Phyt. astragali.

Indole + :

Phyt. levistici.

Ni indole, ni H₂S.

— Glucidolytiques :

Phyt. passiflorae.

Phyt. iridicola (Amidon seulement).

Phyt. radicipeda.

— Non glucidolytiques :

Phyt. maublancii.

Phyt. cottlyae.

Phyt. colurnae.

B) Gélatine non liquéfiée.

1° Réaction des nitrites positive.

Glucidolytiques :

Phyt. alboprecipitans.

Phyt. helianthi.

Phyt. petasitis (incertain).

Non glucidolytiques :

Phyt. panici miliacei.

Phyt. reducans.

2° Réaction des nitrites négative.

Indologène :

Phyt. saliciperda.

Indole 0 :

Phyt. stizolobii.

Phyt. coenobios.

Phyt. eriobotyreae.

Phyt. mesentericus.

Glucose ou amidon + :

Phyt. andropogonii.

Phyt. woodosii.

Phyt. lignicola.

Phyt. melophtora.

Imprécis :

rubrisubalbicans.

GENRE III. *Agrobacterium*. — On en doit la description à CONN (1942).

Ce genre rassemble des bâtonnets asporulés, Gram négatif, mobiles, munis de cils polaires.

Sous leur action, les milieux courants ne sont pas acidifiés. En milieu synthétique, production de CO₂.

Colonies blanchâtres, blanc sale, ou discrètement rosées.

Pas de fixation de l'azote libre, mais utilisation de l'azote ammoniacal et des nitrates.

Cultivent entre 25° et 30°.

Ces germes parasitent les racines des plantes et y provoquent des hyperplasies.

Espèce-type : *Agr. tumefaciens*, l'ancien *Bacterium tumefaciens*.

Clé de détermination : cinq espèces seulement :

A) *Gélatine liquéfiée.*

Nitrates réduits en nitrites.

H₂S faible, glucose et galactose acidifiés :

Agr. pseudotsugae.

B) *Gélatine non liquéfiée.*

1° *Réaction des nitrites positive.*

H₂S + :

Agr. tumefaciens.

2° *Réaction des nitrites négative.*

H₂S + :

Agr. radiobacter (lactose)

Agr. alma.

Agr. gelida.

GENRE IV. *Erwinia.*

Clé de détermination. — Bâtonnets asporulés, Gram négatif, mobiles, ciliation pérित्रiche.

Attaquent un certain nombre de sucres dont le glucose et fréquemment le lactose, production de gaz.

Ces bactéries sont phytopathogènes, provoquent la pourriture des plantes. Elles sécrètent une protopactidase qui détruit la substance lamellaire intermédiaire.

Aérobies, anaérobies facultatifs.

Tués entre 45° et 50°. Température optima de croissance : 35°-37°.

Ce genre n'est pas encore bien limité, il faut le reconnaître. Les phytopathologistes tiennent compte du caractère agressif de ces microbes pour les végétaux. La plupart des espèces — les noms le soulignent — ont, en effet, été isolés de plantes malades.

A) *Gélatine liquéfiée.*

1° *Nitrates réduits en nitrites.*

Producteurs de H₂S :

- E. betivora.*
- E. carnegieana.*
- E. phytophthora.*
- E. aroïdeae.*
- E. lili.*

Pas de H₂S :

- E. betae-gelatae.*
- E. carotovora.*
- E. cytolytica.*
- E. ichthyosmia (indologène).*
- E. atroseptica.*

2° *Nitrates non réduits en nitrites.*

Production d'indole :

- E. orivanense.*

Pas d'indole :

- E. amylovora.*
- E. ixiae.*
- E. punctata.*

B) *Gélatine non liquéfiée.*

1° *Nitrates réduits en nitrites.*

Production de H₂S :

- E. nimipressularis.*
- E. dahliae.*

Pas de H₂S :

- E. dissolvens.*
- E. araliavora.*

2° *Nitrates non réduits en nitrites.*

E. tracheiphila.

E. caticida.

E. papayae.

Espèces cellulolytiques.

Gélatine liquéfiée.

Lait acidifié :

Er. cellasea.

Er. iugis.

Indole + :

Er. concitata.

Gélatine non liquéfiée.

Lait acidifié :

Er. albida.

Er. alma.

Indole + :

Er. desidiosa.

NH₃ + :

Er. pusilla.

Er. gelida.

GENRE V. — *Aplanobacter.*

Clé de détermination. — Bâtonnets asporulés, Gram négatif, immobiles, phytopathogènes.

Les dimensions de ces germes oscillent entre 1,5 et 2,5.

Courtes chaînettes. Cultures faciles sur les milieux courants.

Certaines souches sont cellulolytiques.

Les chromogènes étaient jusqu'ici considérées comme un caractère fréquent des *Aplanobacter*. Les sources d'erreur sont, là encore, évidentes. Nous avons préféré reclasser les spécimens chromogènes auprès des *Flavobacterium* dans un genre nouveau : le genre *Empedobacter*, ainsi que nous l'avons déjà expliqué.

Ont été exclues du genre *Aplanobacter*, les espèces suivantes :

	RAISON :	NOUVELLE POSITION
<i>Apl. betlis</i>	Colonies jaunes	<i>Empedobacter</i>
<i>Apl. flavigena</i>	—	—
<i>Apl. idoneum</i>	—	—
<i>Apl. rhizoctonia</i>	—	—
<i>Apl. udum</i>	—	—
<i>Apl. agropyri</i>	Gram positif (<i>Bacterium</i> chromogène)	

Il reste alors les espèces suivantes :

Gélatine non liquéfiée :

Nitrates réduits en nitrites :

Apl. dissolvens.

Nitrates non réduits en nitrites :

Apl. acidulum (cellulolytiques).

Apl. cepivorum.

Apl. castigatum (cellulolytique).

Apl. lucrosum.

Apl. nenckii.

Espèces encore mal étudiées, de caractères imprécis : *Apl. magroui*, *Apl. lignatum*; *Apl. pini*, *Apl. rabici*.

II. — *ACHROMOBACTEREAE* (J. MAGROU et A. PRÉVOT).

On a réuni dans cette tribu les espèces non chromogènes.

Primitivement divisée en deux genres, nous rappelons que la nécessité de séparer les espèces mobiles des espèces immobiles a conduit à la création du genre *Acinetobacter* (J. BRISOU et A. PRÉVOT, 1954).

GENRE I. *Achromobacter* (Bergey et all.), 1937. — Bactéries très répandues dans la nature. Bâtonnets asporulés, mobiles, cils péritriches, Gram négatif.

Culture aisée sur tous les milieux.

Colonies incolores transparentes ou opaques. Parfois consistances, butyreuses ou visqueuses.

Quelques spécimens phosphorescents.

Clé de détermination.

A) *Espèces liquéfiant la gélatine.*

1° *Nitrates réduits en nitrites.*

a) *Indologènes :*

— H₂S + :

Achr. iophagum.

— H₂S — :

Achr. ichthyodermis.

Achr. minuscula.

Achr. lipolyticum.

b) *Luminescents :*

Achr. harveyi, Achr. fischeri.

— Ni indole ni H₂S :

a) *Glucidolytiques :*

Achr. subrubra.

Achr. delicatulum.

Achr. putrefaciens.

Achr. gryphea.

Achr. echinodermis.

Achr. hyperopticum.

Achr. calcis.

b) *Glucides non fermentés :*

Achr. thalassius.

Achr. recti et radicans.

Achr. hyalinum.

Achr. liquidum.

Achr. dentriticum.

Achr. cryosthasia.

2° Nitrates non réduits en nitrites.

a) Indologènes :

Achr. fairmoutense.

Achr. septicemiae.

Achr. coadunatum.

— Lait tournesolé réduit :

Achr. formosum.

— Lait tournesolé inchangé :

Achr. superficiale.

Achr. gasoformans.

Achr. stoloniferum.

Achr. nitrificans.

— Lait tournesolé acidifié, coagulé :

Achr. multistriatum.

— Lait tournesolé alcalinisé :

Achr. bookeri.

Achr. nebulosum.

Achr. geniculatum.

b) Non indologènes H₂S + :

Achr. marinopersica.

Achr. beaufortensis.

Achr. liquefaciens.

Achr. marinoglutinosa.

Achr. atlantica.

c) Ni indole, ni H₂S :

Achr. litoralis.

Achr. membraniformis.

Achr. fragi.

Achr. membranula.

Achr. lipophagum.

d) Non glucidolytiques.

e) Luminescents :

Achr. phosphoreum.

B) *Espèces ne liquéfiant pas la gélatine.*

1° *Nitrates réduits en nitrites.*

H₂S + :

Achr. pinnatum.

Achr. pinnatum variété *geminum.*

Ni indole, ni H₂S :

— Glucidolytiques :

Achr. tralucida.

Achr. mira.

Achr. pestifer.

Achr. aquamarinus.

Achr. azotogena.

Achr. rathonis et *desmolyticum.*

Achr. perfectomarinum.

Achr. labrum.

— Non glucidolytiques :

Achr. sewerini (1).

Achr. agile et variétés.

Achr. centropunctatum.

Achr. dacunhae.

Achr. stutzeri.

Phosphorescent :

Achr. phosphoricum.

2° *Nitrates non réduits en nitrites :*

(1) Consulter page 124, discussion de ce groupe.

Indole + :

Achr. pikowsky et variétés *ambiguum*, *sinosum*.

Pas d'indole, H₂S +.

— Glucidolytiques :

Achr. fecaloïdes.

Achr. guttatum.

— Non glucidolytiques :

Achr. mariense.

Ni indole, ni H₂S.

— Glucidolytiques :

Achr. arvillum, variété *salopium*.

Achr. ureasophorum.

Achr. stereotropis et *roseola*.

— Non glucidolytiques :

Achr. alcaligenes et variétés *alcaliaromaticum*,
ravenelii, *rugosum*, *solitarium*, *pellucidum*.

Caractères imprécis :

Achr. hartlebii, *venenosum* et *innunctum*.

GENRE II. *Acinetobacter* (J. BRISOU et A. PRÉVOT), 1954. — Bâtonnets souvent très courts, asporulés, Gram négatif, immobiles. Formes en diplocoques, neisseriformes ou en navettes.

En amas, par paires ou courtes chaînettes. Quelques formes capsulées. Cultures aisées, même en milieux synthétiques.

Assez répandus dans la nature. Parfois pathogènes pour l'homme et les animaux.

A) *Gélatine liquéfiée*.

1° *Nitrates réduits en nitrites*.

a) Glucidolytiques :

Acin. stationis.

b) Non glucidolytiques :

Acin. stenohalis.

2° Nitrates non réduits en nitrites.

a) Glucidolytiques :

Acin. butyri.

Acin. saponiphilum.

b) Non glucidolytiques :

Acin. marshallii.

B) Gélatine non liquéfiée.

1° Nitrates réduits en nitrites.

Acin. minutissima.

Acin. spermophilum.

Acin. equirulis.

Acin. delmarveae et variétés : *ubiquitum*, *nitro-*
vorum, *fermentationnis*, *filefaciens*, *nasalis*,
parvulum.

2° Nitrates non réduits en nitrites.

Indole +, et H₂S + :

Acin. larvae.

Pas d'indole, H₂S + :

Acin. tangellensis et variété *Jeffersoni.*

Acin. eurydice.

Acin. douglasii.

Ni indole, ni H₂S :

— Glucidolytiques :

Acin. anitratum.

Acin. winogradsky.

Acin. coccoïdeum et variétés *oxygenes*, *lacti-*
cum, *acidum*, *middletowni.*

Acin. polymorpha.

— Non glucidolytiques :

Acin. lwoffii, variétés *brevis* et *bacteroïdes*.

Acin. viscosum.

Acin. metalcaligenes et variétés *jiogense*, *rodonatum*, *refractum*, *candicans*, *connii*.

Acin. cyprinicida.

Bon nombre de ces bactéries intéressent la médecine humaine et vétérinaire (1).

GENRE III. *Mycoplana* (GRAY et THORNTON), 1928. — Le genre *Mycoplana* rassemble les *Achromobacteriaceae* dont les éléments présentent des ramifications, particulièrement dans les cultures jeunes. On peut y voir, çà et là, quelques formes incurvées.

Ces germes possèdent un équipement enzymatique qui leur permet l'utilisation des phénols et des composés aromatiques comme seules sources d'énergie.

Ils cultivent aisément sur les milieux usuels.

Pour l'instant, le genre *Mycoplana* se réduit à deux espèces :

— L'une hydrolyse la gélatine : *Myc. bullata*.

— L'autre est sans action sur ce substrat : *Myc. dimorpha*.

Les deux souches connues ont été isolées du sol en 1928 par GRAY et THORNTON.

TRIBU III. — *Chromobacteriaceae*.

On a rassemblé ici les *Pseudomonadaceae* chromogènes, donnant naissance à des colonies nettement pigmentées, soit en jaune, en orange, en violet ou en rouge.

Les pigments sont rarement hydrosolubles, ne diffusent pas dans le milieu, ne sont jamais fluorescents.

On reconnaissait quatre genres : *Chromobacterium*, *Flavobacterium*, *Protaminobacter* et *Serratia*.

(1) Quelques cellulolytiques : « *Acin. acidulum* », « *castigatum* », « *cepivorum* » et « *lucrosum* ».

Nous avons ajouté *Empedobacter* pour les bactéries immobiles donnant des colonies jaunes, près du genre des *Flavobacterium* et des *Xanthomonas*, phytopomogènes.

GENRE I. *Chromobacterium* (BERGONZINI), 1881. — Bâtonnets asporulés, mobiles, Gram négatif, aérobies, élaborant un pigment violet ou bleu-violet qui teinte plus ou moins fortement les colonies.

Ce pigment est insoluble dans l'eau et le chloroforme; il peut être extrait par l'alcool.

Bactéries de culture facile, n'acidifiant pas le lactose, mais attaquant le glucose.

Les *Chromobacterium* sont gélatinolytiques, ne donnent pas d'indole, réduisent, en général, les nitrates et cultivent entre 20° et 25°.

On les rencontre dans le sol et les eaux. Certains peuvent être responsables de maladies humaines, c'est le cas, en particulier de *Ch. violaceum* et de la variété *manilae* qui, à plusieurs reprises, ont provoqué des affections aiguës, la plupart du temps très graves ou mortelles.

Toutes les espèces décrites sont assez proches les unes des autres et ne se différencient que par de petits détails cultureux; l'espèce type reste *Chr. violeceum*.

Gélatine liquéfiée par toutes les souches.

1° Nitrites + :

Ch. violaceum et variété *manilae*.

2° Nitrites 0 :

— Glucidolytiques :

Ch. ianthinum.

Chr. amethystinum.

— Non glucidolytiques ou incertains :

Chr. coeruleum.

Chr. smithii.

Chr. membranaceum.

Chr. lividum.

Chr. viscofucatum (intermédiaire entre : *Chromobacterium* et *Pseudomonas*.)

GENRE II. *Flavobacterium* (BERGEY), 1927. — Ce genre est très riche, mais encore un peu hétérogène.

On y groupe par définition des bactéries non sporulées, Gram négatif, mobiles, à ciliation péritriche. Pigment jaune d'or ou orange. Groupe des caroténoïdes.

Faible activité sur les sucres. Rares espèces gazogènes.

Sol, eaux douces et marines; parfois, pathogène pour l'homme et les animaux :

Quelques espèces cellulolytiques.

Clé de détermination :

A) *Gélatine liquéfiée :*

1° *Nitrites + :*

Fl. diffusum.

Fl. okeanokoïtes.

Fl. rhenanus.

Fl. balustinum.

Fl. gelatinum.

Fl. biazotea.

Fl. aurogenes.

Fl. folia et rossica.

Fl. rigense.

Fl. rigense.

Fl. schirokikhii.

Fl. rheni.

— *Indole et H₂S + :*

Fl. suaveolens.

Fl. trifolium.
Fl. xanthe.
Fl. hydrophyllum.
Fl. fermentans.
Fl. lemonieri.

— Indole 0, H₂S + ou — :

Fl. typhi.
Fl. flavum.
Fl. amocontactum.
Fl. oceanica.
Fl. caudatum.
Fl. orchitidis.
Fl. whitmori.

2° Nitrites négatifs :

— H₂S 0 :

Fl. chitinochroma.
Fl. aurantiacum.
Fl. rhodomeleae.
Fl. devorans.
Fl. perlucidum.
Fl. neptunium.
Fl. turcosum.
Fl. marinum.
Fl. geniculatum.
Fl. radiatum.
Fl. harrisonii.
Fl. halohydrium.
Fl. anteniforme.
Fl. tremelloïdes.
Fl. plicatum.
Fl. aromaticum.

— H₂S + :

Fl. marinotypicum.

Fl. marinovirosum.

Fl. vadosum.

Fl. prunearum.

Fl. enalium.

Fl. ochraceum.

— *Indologènes H₂S 0* :

Fl. acidificum.

Fl. indoltheticum.

Fl. galbum.

Fl. bibulum.

Fl. annulatum.

B) *Gélatine non liquéfiée.*

1° *Nitrites +* :

Fl. pictorum.

Fl. argutum.

Fl. subcretum.

Fl. cerevisiae.

Fl. aestumarinum.

Fl. gilvum.

Fl. denitrificans.

Fl. pastinator.

Fl. aurantinum.

2° *Nitrites 0* :

Fl. lactis.

Fl. butyri et stolonatum.

Fl. flavescens.

Fl. invisibile.

Fl. matazooni.

Fl. chlorum.

Fl. lacunogenes.

Fl. segris.

Fl. resinovorum.

Fl. xanthochrus.

3° *Nitrites non précisés* :

Fl. lentulum.

Fl. morbificans.

GENRE IV. — *Xanthomonas*. (DOWSON), 1939. — On connaît maintenant les motifs du transfert de ce genre dans la tribu de *Chromobacteriaceae*.

Bâtonnets asporulés, Gram négatif, mobiles.

Producteurs d'un pigment jaunâtre insoluble dans l'eau.

En général, très protéolytiques.

Lait alcalinisé et digéré.

Production très fréquente de H₂S.

Acidification des mono et disaccharides.

Agents de la nécrose des plantes.

Il en distinguait environ une cinquantaine d'espèces, réduites maintenant aux seules nitrites chromogènes.

A) *Gélatine liquéfiée.*

1° *Réaction des nitrites positive.*

a) H₂S + :

X. beticola.

X. papavericola.

X. acernea.

X. heterocca.

b) H₂S — :

X. lectucae scacariolae.

X. rubrilineans.

X. alfalfae.

2° *Réaction des nitrites négative.*

a) H₂S + :

X. hyacinthi.

X. pruni.
X. translucens.
X. barbareae.
X. begoniaeae.
X. campestris.
X. citri.
X. corylina.
X. cucurbiteae.
X. dieffanbachiae.
X. halicola.
X. juglandis.
X. lespedezeae.
X. vitians.
X. malvacearum.
X. phaseoli.
X. hedereae.
X. phormicola.
X. pelargonii.
X. gummisudans.
X. lactuae.
X. nakatae.
X. gypsophilae.
X. vesicotoria.

b) H₂S — :

X. plantaginis.
X. ricinicola.
X. vascularum.
X. carotae.
X. nigromaculans.
X. fici.

B) Gélatine non liquéfiée.

Réaction des nitrites positive,

a) H₂S + :

X. oryzea.

X. tardicrescens.

b) H₂S — :

X. antirrhini.

X. suberfaciens.

X. stewartii.

X. rhapontici.

GENRE V. *Empedobacter*. — Nous proposons ce genre nouveau pour grouper les anciens *Flavobacterium* immobiles.

Il y avait deux solutions possibles : ou bien reporter des bactéries dans le genre *Aplanobacter*, ou bien proposer un genre nouveau. Le chromogénèse impose la deuxième solution. Nous l'avons choisie.

Clé de détermination :

A) Gélatine liquéfiée.

1° Nitrates réduits en nitrites :

Emp. bufo.

Emp. lutescens.

Emp. fucatum.

Emp. balustinum.

Emp. flavigena.

Emp. ferrugineum.

Emp. dormitator.

Emp. idoneum.

Emp. udum.

Emp. uliginosum.

2° Nitrates non réduits en nitrites :

Emp. sewanense.

Emp. droebachense.

Emp. arborescens.

Emp. iridescens.
Emp. esteroaromaticum.
Emp. fecale.
Emp. nicholsi.
Emp. burneum.
Emp. helvolum.
Emp. buccalis.

B) *Gélatine non liquéfiée.*

a) Nitrates réduits en nitrites :

Emp. proteus.
Emp. flavotenu.
Emp. inertia.

b) Nitrates non réduits en nitrites :

Emp. breve.
Emp. solare.
Emp. paffii.
Emp. lacunatum.
Emp. decidosum.
Emp. fulvum.
Emp. ovale.

GENRE VI. *Protaminobacter* (Den DOOREN de JONG). — Ce genre fut défini dans la thèse de Den DOOREN de JONG. en 1926. à Rotterdam.

Bacilles mobiles ou peu mobiles, capables d'attaquer les

alkylamines inférieures du groupe $\text{HN} \begin{array}{l} \diagup \text{C-R} \\ \diagdown \text{C-R}' \end{array}$

On les rencontre dans le sol et l'eau.

Les cultures sont fréquemment colorées en jaune.

La diméthylamine $\text{HN} = (\text{CH}_3)_2$ est le type des substances attaquées après les *Protaminobacter*,

Ce genre se réduit à deux espèces :

P. alboflavum à colonies jaunâtres avec les variétés.

P. rubrum à colonies rouges.

En somme, il s'agit là d'un genre de transition appelé, nous le souhaitons, à disparaître. Il serait en effet plus simple de reporter le premier dans les *Flavobacterium* et le second dans les *Serratia*. L'attaque des alkylamines secondaires ne justifie pas un genre pour deux espèces, l'une donnant un pigment jaune, l'autre un pigment rouge.

GENRE VII. *Serratia* (Bizio, Emend., Breed). — Ce genre termine la vaste famille des *Pseudomonadaceae*, en groupant les espèces chromogènes à colonies rouges.

Ces germes liquéfient la gélatine, réduisent les nitrates en nitrites, coagulent et digèrent le lait.

Bacilles Gram négatif, asporulés, ciliation péritriche, formes très courtes, très fréquentes, d'où le nom de *Micrococcus* qui leur a été souvent donné.

Clé de détermination.

PIGMENTS INSOLUBLES DANS L'EAU.

A) *Gélatine liquéfiée.*

1° *Nitrates réduits en nitrites :*

Ser. marcescens.

Ser. indica.

Ser. pymuthicum.

Ser. kilensis.

2° *Nitrates non réduits :*

Ser. cutirubra.

3° *Nitrates incertains :*

Ser. rubida.

B) *Gélatine non liquéfiée.*

1° *Nitrates réduits en nitrites :*

Ser. latericea.

Ser. corallina.

Ser. beijerincki.

2° *Caractères imprécis :*

Ser. erythrogloea.

Ser. salinaria.

PIGMENTS HYDROSOLUBLES, COLORANT LE MILIEU.

Ser. piscatorum.

Ser. bruntzii.

Ser. pyoseptica.

Ser. anolia.

CONCLUSIONS

Ce travail expérimental au cours duquel un certain nombre de souches de *Pseudomonadaceae* ont été décrites n'a d'autre but que de montrer l'intérêt de ces bactéries qui constituent une vaste famille d'environ quatre cent soixante-quinze espèces actuellement connues.

On trouve de tels germes dans toute la nature, quels que soient les milieux interrogés au cours des enquêtes microbiologiques.

L'ubiquité de certaines espèces est surprenante. C'est le cas par exemple de certains *Achromobacter* comme *Achr. sewerini*, *Achr. delcatulum*, etc., que l'on rencontre dans les eaux douces, le milieu marin, les coquillages, des eaux souillées, des produits pathologiques d'origine humaine ou animale. Que faut-il en penser si l'on se place sur le plan de l'hygiène ? La question mérite d'être posée.

Des espèces décrites outre-Atlantique ont été retrouvées sur les côtes françaises. Les caractères cultureux ont pu être complétés. L'étude de chaque souche a fait l'objet d'une discussion taxinomique. Les arguments choisis avaient pour but de préparer le lecteur à une classification aussi rationnelle que possible.

Cette classification, dans laquelle il ne faut voir qu'un instrument de travail, se révèle à l'usage satisfaisante. Elle a permis en effet l'identification rapide de plus de cent souches microbiennes de provenance variée au cours de ces derniers mois.

Une étude consacrée aux métabolismes des *Pseudomonadaceae* a été esquissée. Nous avons surtout insisté sur l'action de ces microbes sur les thiocomposés et les hydrocarbures. Un « cracking » biologique des pétroles paraît réalisable.

Nous pensons enfin que le parallèle établi entre la classification américaine et la systématique française apportera un suffrage favorable à cette dernière.

BIBLIOGRAPHIE

1. ADAM (A.), POWELL (D.), et ANDERSON (Hw). — Time of peach twig infection by *X. pruni*. — *Phytopathogy*, 1955-45-285.
2. AUDEBARD (G.), GANZIN (M.), CECCALDI (J.) et MERVEILLE (P.). — Isolement du chromobacterium violaceum à partir de lésions hépatiques observées chez le singe « Cerc. cephus ». — *Ann. Inst. Past.*, 1954-87--413.
3. AUDUREAU (M^{lle}). — *Ann. Inst. Past.*, 1940-64-126.
4. AUDUREAU (M^{lle}). — *Ibid.*, 1947-73-690.
5. AMOUREUX (M^{lle}). — Recherches biochimiques sur *Bacterium tumefaciens*. — *Thèse Ingénieur-Docteur*, Paris, 1934.
6. Autotrophic Microorganisms. — *Symposium of the Soc. Gen. microbiol. Cambridge*, 1954; University Press, édit.
7. BARER (R.). — Spectrophotometry of clarified cell suspensions *Science*, 1955-121-709.
8. BARREAU. — Contribution à l'étude du Genre *Achromobacter*. — *Thèse Méd.*, Bordeaux, 1953.
9. BEER (B.-E.), JENNINGS et ROBERTSON (Al.). — The chemistry of Bacteria - An indolylpyrrolméthane from violaceine. — *Journ. Chem. Soc.*, 1954-2679.
10. BEERSTECHEER (E.). — *Petroleum microbiology*, Elsevier Press, 1 vol., 1954.
11. BEGUET (M.). — Sur l'obtention d'une variation à caractères fixés de *Cocobacillus prodigiosus*. — *Cr. Soc. biol*, 1932-110-1025.
12. BERGEY'S. — *Manual of determinative Bacteriology*. — Editions de 1923, 1930, 1948.
13. BILLING. — *J. Gén. Microbiol*, 1955-13-252.
14. BORD (de). — *J. Bact.*, 1939-38-119.

15. BORD (de). — *Iowa State Coll. J. Sc.*, 1942-16-217.
16. BORD (de). — *Journ. Labor. Clin. Méd.*, 1943-28-710.
17. BORD (de). — *Journ. Bact.*, 1948-55-764.
18. BONDE (G.) et JENSON (L.-E.). — *Bull. Soc. Chim. Belge*. 1956-65-50.
19. BOURLAT. — Contribution à l'étude bactériologique de *B. anitratum*. — *Thèse méd.*, Bordeaux, 1953.
20. BUCHANAN (R.-L.), JOHN-BROOKE et BREED (R.-S.). — International Bacteriological code of Nomenclature. — *The Gen. Microbiol.*, 1949-3-44.
21. BUNTING (A.). — Description of some color variants produced by *S. marcescens*. — *Journ. Bact.*, 1940-40-57.
22. BURKHOLDER (W.-H.), FADDEN (M.) et DOMACK (A.-V.). — A bacterial blight of *Chrysanthemum*. — *Phytopathology*, 1943-43-522.
23. BLACK et SHARAN. — *J. Amer. Med. Assoc.*, 1938-110-1270.
24. BRAUN (A.-C.). — Organisation of Crown-gall tumor cells in the presence of a formative stimulus. — *Phytopathol.*, 1953-43-204.
25. BREED (R.-S.) et LESSEL (E.-F.). — The classification of luminescent bacteria - Ant. van Loewenhooek. — *Coll. Univ. Geneva N.-York*, 1954.
26. BRISOU (J.). — Acquisitions récentes sur les Enterobacteriaceae. — *Biol. Méd.*, 1954, n° 1.
27. BRISOU (J.). — Les infections chroniques par microbisme sélectionné et substitué. — *Bull. Acad. Méd.* 1952-136-116.
- 27 bis. BRISOU (J.). — Le test d'uréolyse chez les Entérobactéries. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1949-31-1656.
28. BRISOU (J.). — Antibiotiques et synthèse des complexes B. - Les sélections en chaîne. — *Presse Méd.*, 1953, n° 36, 748.
29. BRISOU (J.) et ARDISSON. — Flore intestinale des sujets soumis aux traitements antibiotiques. — *Ann. Inst. Past.*, 1952, 82, 603.
30. BRISOU (J.) et MORAND (P.). — *Escherichia Coli* donne-t-il de l'hydrogène sulfuré. — *Ann. Inst. Past.*, 1953-83.
31. BRISOU et PAQUET (R.). — Essais de dessoufrage des pétroles par les Bactéries. — *Cr. Acad. Sciences*, 1953-236-862.

32. BRISOU (J.) et MORICHAUD-BEAUCHANT (J.). — *Ann. Inst. Past.*, 1952-82-640.
33. BRISOU (J.), MORICHAUD-BEAUCHANT (J.), et GIMENEZ (J.). — Mimeae et formes courtes de bactéries. — *Ann. Inst. Past.*, 1953-84-814.
34. BRISOU (J.) et PRÉVOT (R.). — Contribution à l'étude du genre *Achromobacter*. — *Ann. Inst. Past.*, 1954
35. BRISOU (J.). — *Microbiologie du milieu marin*, 1 vol., Flammarion, Paris, 1955.
36. BRISOU (J.). — Nouvelles espèces de Bactéries marines du genre *Achromobacter*. — *Ann. Inst. Past.*, 1954.
37. BRISOU (J.). — Contribution à l'étude des *Pseudomonadaceae*. Précisions taxinomiques sur le genre *Acinetobacter*. — *Ann. Inst. Past.*, 1957-92-134.
- 37 bis. BRISOU (J.). — *Ann. Inst. Past.*, 1957-93-397.
38. BROOKE. — *Act. Path. Microb. Scand.*, 1951-28-338.
39. BROWN (H.-J.) et GIBBONS (N.-E.). — The effect of magnesium, potassium and iron the grow and morphology of red halophilic bacteria. — *Journ. Microb.*, 1955, n° 7, 486.
40. CAMPBELL et WILLIAMS. — Aminoacid utilisation by selected species of *Achromobacter*. — *Food Reseach*, 1951-16-504.
41. CAMPBELL et WILLIAMS. — A study of chitin decomposing microorganisms of marine origin. — *J. Gen. Microb.* (Supp.), 1951-5-894.
42. — CATHELINÉAU (H.). — Contribution à l'étude biologique de *B. viridis* - Lesage. — *Ann. Inst. Past.*, 1896-10-228.
43. CLARKE (P.) et TRACEY (M.-N.). — The occurrence of chitinase in some bacteria. — *J. Gen. Microbiol.*, 1956-14-188.
44. COLIN (H.). — *Oxydases et déshydrases*, 1 vol., Hermann. Paris, 1947.
45. CORMIER et STREHLER (B.-L.). — Some comparative biochemical aspect of cell-free bacterial luminescence. — *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1954-44-277.
46. COUTURIER. — Affections chroniques entretenues par microbisme sélectionné et substitué. — *Thèse méd.*, Bordeaux, 1952.

47. COWAN (S.-T.). — *Journ. Gen. Microbiol.*, 1955-12-314.
48. CHAMBERLAIN (D.-W.). — A halo producing strain : *Pseudomonas glycinae*. — *Phytopathology*, 1952-42-299.
- 48 bis. CHESTAS, TURNER et APINIS. — *Sec. Int. Seaweed symp.*, 1955. — Pergamon Press, 156-141.
49. COURINGTON et GOODWIN. — *J. Bact.*, 1955-70-568.
50. CROWFORD (I.-P.). — A new fermentative Pseudomonadaceae : *Pseudomonas formica*. — *J. of Bact.*, 1954-68-734.
51. CROSSE (J.-E.). — The leaf scare as an avenue of infection for cherry bacterial canker : *Pseudomonas mors prunorum*. — *Nature*, 1951-168-560.
52. DARRASSE (H.), MAZAUD (R.), GIUDICELLI (P.), et CAMAIN (R.). — U ncas humain mortel dû à *Chr. violaceum*. — *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1955, n° 5, 48-704.
53. DAVIS (J.-B.), et UPDEGROFF (D.-M.). — Microbiology in petroleum industry. — *Bacteriol. Reviews*, 1954-18-215.
54. DEACON (W.). — *J. Bacter.*, 1954-49-511.
55. DEON (J.) et MORTELMANS (J.). — *Rev. Immunol.*, 1953-17-394.
56. DELAPORTE (M^{lle}), et DASTE (Ph.). — *Cr. Acad. Sc.*, 1956-242-831.
57. DERBACH. — *Journ. Microbiol. Epid. Immun.*, 1947-11-51.
- 57 bis. DEREUX (J.). — *Acad. Nat. Méd.*, 1954-138-118.
58. DERX (H.-G.). — *VI^e Congrès inter. Microbiol. Roma*, vol. III, 875.
59. DESNEULLE et FROMAGEOT (Cl.). — *Enzymologia*, 1939-6-80.
60. DIACHUN (S.) et TROUTMAN (J.). — Multiplication of *Pseudomonas tabaci* of burley tobacco « *Nicotinia correogiflora* » and hybrids. — *Phytopathology*, 1954-44-186.
61. DICKINSON (L.). — *J. Gen. Microbiol.*, 1948, 2, 154.
62. DOBROWOTSKI. — Les microbes producteurs de phénols. — *Ann. Inst. Past.*, 1910-24-395.
63. DOWSON (W.-J.). — The taxonomy and nomenclature of the plant pathogenic bacteria. — *IV^e Congrès Intern. Microbiol. Copenhague*, 1957-VI-135.
64. DUCAMP et PLANCHON. — Note sur un bacille fluorescent et liquéfiant des eaux de Montpellier. — *Cr. Soc. Biol.*, 1984, I, 10^e série, 266.

65. DUSSAULT (H.-P.). — An improved technic for staining red halophilic bacteria. — *J. of Bact.* 1956-70-484.
66. EHRLSMANN et NEATHLING. — Spectre d'absorption de la prodigiosine. — *Bioch. Zeitr.*, 1936-284-376.
67. EISENSTACK (A.) et BERNSTEIN (L.-B.). — *Phytopathology*, 1955-45-596.
68. ELROY (Mc) et STREHLER (B.-L.). — Bioluminescence. — *Bacteriol. re.*, 1954-18-177.
69. FEDER (W.-A.) et ARK (P.-A.). — Wilt inducing polysaccharides derived from Crown-gall, bean light and soft rot bacteria. — *Phytopathology*, 1951-41-804.
- 68 bis. FEDER (W.-A.) et ARK (P.-A.). — Wilt inducing polysaccharides derived from Crown-gall, bean light and soft bacteria. — *Phytopathology*, 1951-41-804.
69. FERGUSON (W.-W.) et ROBERTS (L.-F.). — *J. Bact.*, 1950-59-171.
70. FRASER et MULCOK. — Staining of wool by bacterial pigments. — *Nature*, 1956-177-625.
71. FRIEDMEIN (A.). — La fonction respiratoire du pigment de *B. violaceum*. — *C. R. Soc. Biol.*, 1932-110-353.
72. FLOCH (H.) et LAJUDIE (P. de). — *Arch. Inst. Past. de la Guyane*, 1943, n° 63.
73. FROMAGEOT (Cl.). — *Expert. Ann. Bioch. Méd.*, 7° série, 1956-281.
74. FRIEDMANN (B.-A.). — *Pseudomonas marginalis* cause of soft rot of imported witloof chicory. — *Phytopathology*, 1951-41-880.
75. FULLER (T.-T.) et HORTON (J.-M.). — Etudes sur la marcescine. — *J. Gén. Microb.*, 1950-4-417.
76. GESSARD. — De la pocyanine et de son microbe. - Colorations qui en dépendent dans les liquides organiques. — Thèse Médecine, Paris, 1882, et *Ann. Inst. Past.*, 1892, 1901 et 1902.
77. GIANELLI (F.). — Popolazioni Batteriche isolate da Naselli Dell' adriatico. — *Ig. Moderna*, 1956, 7-3-613.
78. GOODMAN (R.-N.) et HEMPHILL (D.-D.). — The effects of indole - b - acetic acid on the plant diseases. - Inhibiting properties of antibiotics. — *Science*, 1954, 119, 347.
79. GREEN (J.), RAPPORT (D.-A.) et WILLIAMS (R.). — Studies pigments of *S. marcescens*. — *J. Bact.*, 1956-72-483.

80. GROSSMANN. — Untersuchungen zur Frage *Bacterium typhiflavum*. — *Centrl. f. Bakt.*, I, 1933-129-508.
81. HAAS. — *Science*, 1942-95-631.
82. HAMON (Y.). — Contribution à l'étude des pyxocynes. — *Ann. Inst. Past.*, 1956-90-82.
83. HAMMERSTROM. — The constitutive nature of bacterial cellulose. — *Arch. Bioch.*, 1955-56-123.
84. HARVEY. — *Living light*, 1 vol., Princeton, 1940.
85. HARVEY. — *Bioluminescence*, 1 vol., New-York, 1951. — Acad. Press, Edit. 6.
- 85 bis. HAUSER et KARNOVSKY. — Studies the production of glucolipids. — *J. bact.*, 1954-68-645.
86. HAYAISHI et STANIER (R.-Y.). — *J. Biol. Chem.*, 1952-195-735.
87. HAYNES. — *J. Gen. Microbiol.*, 1951-5-939.
88. HENRICKSEN (S.-D.). — *Act. Microb. Scand.*, 1947-24-184.
89. HENRICKSEN. — *J. of Gen. Microbiol.*, 1952-6-318.
90. HERBERT (J.), SCHOTTENBERG et HARRIS (W.-H.). — Affection grave due à *Chr. violaceum*. — *J. of Bact.*, 1942-44-509.
91. HEWITT (L.-F.). — *Oxydation-reduction potential in bacteriology and biochemistry*, 1 vol., London, Country Councill-King, 1936.
92. HIRSCH (W.). — *Central. Bl. f. Bakt.*, 1934, 1-131-39.
93. HUBBARD (R.) et REMINGTON (C.). — Sur la prodigiosine. - Etude par les isotopes. — *Bioch. Journ.*, 1950-46-220.
94. JACOB (A.). — *Ann. Inst. Past.*, 1954-86-149.
95. JAMES (N.). — Yellow chromogenic bacteria in wheat. — II. Determination studies. — *Journ. Canad. Microbiol.*, 1955-7-479.
96. JANKE (A.) et FRAMITS (J.). — Lutte contre les maladies des plantes. - Essai d'action de divers antibiotiques. — *Zentrbl. Bakt.*, II, 1954-108-35.
97. JANKE (A.). — *Zbl. Bakt.*, 1954-108-47 et 66.
98. JOHNSON (F.-H.), GOODALE (W.) et TURKEVITCH (J.). — *Journ. Cell. Comp. Phys.*, 1942-19-162.
99. KATZNELSON (H.) et ROBINSON (J.). — *J. Bact.*, 1956-71-244.
100. KAUFFMANN (E.). — *Enterobacteriaceae*, 1 vol., Copenhagen, 1946.

101. KAUFFMANN (E.). — S/Comitee of Enterobacteriaceae - 1950.
102. KAYSER, PONTEAU, THOUVENOT et PRÉVOT (A.-R.). — Action inhibitrice de la sulfanilamide sur la cysteinase. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1951-33-1735.
103. KEEN (Mc). — Pear blast on Vancouver Island. — *Phytopathology*, 1955-45-629.
104. KELMAN (A.). — The relationship of pathogenocity in *Pseudomonas lanacearum* to colony appearance of tatrastolium medium. — *Phytopathology*, 1954-44-693.
105. KING (E.-O.), et RANEY (D.-E.). — Two simple media for the demonstration of pyocyanine and fluorescein. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1954-44-301.
106. KLEIN (R.-M.). — Resistance and susceptibility of carrot roots to crown gall tumor formation. — *Proceed. Nat. Acad. Sc.*, 1955-271.
107. KLEMENTZ (Z.). — A Bacterial disease of Millet new for Hungary. — *Acta Microb. Acad. Sc. Hung.*, 1954-1-511.
108. KONOVALTSCHI, KOFF, MAZOYER et SENEZ (J.). — *Ann. Inst. Past.*, 1956-90-60.
- 108 bis. KULP et BORDEN. — *J. Bact.*, 1942-44-673.
109. KWAPINSKI et PETRASKIEWICZOWA. — Variation of pigment production on *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* under the influence of phenatène - alkaloids. — *Med. Dow Mikrobiol.*, 1953-5-159 (En polonais, résumé en anglais).
- 109 bis. LABRUM et BUNTING. — *J. Bact.*, 1953-65-394.
110. LANGE et PATON (J.). — *Stain Technol.*, 1955-30-189.
111. LASSEUR. — Etude du pigment de *pseudomonas chlororaphis*. *Thèse Sc.*, Nancy, 1911.
112. LASSEUR et GIRARDET. — *Contribution à l'étude des pigments microbiens*, 1 vol., Nancy, 1927.
113. LEGROS. — Action des pigments microbiens. — *Cr. Soc. Biol.*, 1900, 45-9-900.
114. LEHMANN (E.) et NEUMANN (G.). — *Bakt. Diagnost.*, 2 Aufl., 1899.
115. LEMOIGNE (M.), GIRARD (H.) et JACOBELL (G.). — *Ann. Inst. Past.*, 1952-82-389.

116. LEPIERRE. — Etude d'un bacille fluorescent pathogène. — *Ann. Inst. Past.*, 1895-9-643.
117. LISCHTEIN et VAN SAND. — *J. Infect. Diseases*, 1945-76-47.
118. LISCHTEIN et VAN SAND. — *J. Bact.*, 1946-52-145.
119. LIGHTBROWN (J.-W.). — An antagonist of stretomycin and dihydrostreptomycin produced by *Ps. aeruginosa*. — *J. Gen. Microbiol.*, 1954-11-477.
120. LUTZ (A.), GROOTEN (O.), VELU (H.) et VELU (M.). — Rôle pathogène et fréquences des bactéries du type *B. anitratum*. — *Ann. Inst. Past.*, 1956-91-413.
- 120 bis. LUTIER (F.), BURNET, PIÉCHAUD et STEFFEN. — *Presse Méd.*, 1955-63-860.
121. LWOFF (A.) et IONESCO. — *Ann. Inst. Past.*, 1950-79-14.
122. MAGE. — *Traité de Microbiologie*, Paris, 1901, 1 vol.
123. MAGALHAES (de). — *Bacillus fecalis alcaligenes* isolé du sang. — *Cr. Soc. Biol.*, 1921-84-591.
124. MAGROU (J.). — La maladie des végétaux. — *Expansion scientifique Fr.*, 1948.
125. MAGROU (J.) et PRÉVOT (A.-R.). — *Ann. Inst. Past.*, 1848-75-99.
126. MALLIGO (J.-E.), PARR (L.-W.) et ROBBINS (M.-L.). — *Escherichia aurea* comb. nov. — *J. of Bact.*, 1955-70-498.
127. MANIL (P.) et STRASZŹWSKAZ. — Action de l'aminoptérine sur les tumeurs du Crown gall. — *Rev. Belge Path.*, 1952-22-96.
128. MANIL (P.). — Action du b-mercaptoéthylamine sur le Crown gall. — *Cr. Soc. Biol.*, 1954-148-406.
129. MANHOL (J.), et MITTWER. — *Travaux du Laboratoire Microbiol.*, Nancy, 1953-17-107.
130. MARCHAL (J.-G.) et MOLDO (S.). — Influence du glycocolle et de ses composés sur la production de prodigiosine. — *Trav. Lab. Micro.*, Nancy, 1953-17-93.
131. MARCHAL. — Réaction des végétaux vis-à-vis des bactéries. — *Bull. assoc. Dipl. Microb.*, Nancy, 1955-61-27.
132. MITCHELL (J.-W.), ZANMEYER (W.) et PRESTON (W.-H.). —
133. MIRZABEKIAN (R.-O.). — Les bactéries antagonistes et leurs substances antibiotiques dans la lutte contre les microbes phytopathogènes. — *Izvest. Akad., Naouk, U. R. S. S.*, n° 2, 67.

134. MOLLARET (L.) et WARLUZEL. — *Bull. Acad. Nat. Méd.*, 1954-138-310.
135. MORGAN (E.-N.) et TANNER (E.-M.). — Sur la prodigiosine. — *Journ. of. the Chem. Soc.*, 1955-3305.
136. MUNNECKE (de). — Bacterial stemrot and leaf spot of « *Pearlargonium* ». — *Physiopathology*, 1954-44-627.
137. MOSS et HOPPEL (M.-E.). — Biosynthesis of violacein. — *Bac. Proceed*, 1955-138.
138. MOUSTARDIER (G.), BENTEGEAT (J.) et DURAND (B.). — *Rev. Immunol.*, 1955-19-109.
139. MURPHY (J.-F.) et STONE (R.-W.). — The bacterial dissimilation of naphthalen. — *Cand. J. Microbiol.*, 1955, n° 7, 579.
140. NATALINA (O.-B.), VORONKEVITCH (I.-V.) et KOUZNETSOVA. — Nouvelle maladie microbienne du framboisier. — *Cr. Acad. Sc.*, U. R. S. S., 1954-483.
141. NIEL (Van) et ALLEN (M.-B.). — A note on *Pseudomonas stutzeri*. — *J. Bact.*, 1952-64-413.
142. NICOLLE et DURAND (P.). — *Traité de Microbiologie de Nattan-Larrier*, Paris, 1934; Doin, édit.
143. NOVELLI (A.). — The influence of ultraviolet light and chlorophyll on the synthesis of pigment by *Bact. Prodigiosum*. — *J. Bact.*, 1953-65-479.
144. NOVELLI (A.). — Tattori influenzati la produzione del pigmento de parte del *Bact. Prodigiosum*. — *Bull. Inst. Sierol. Milano*, 1953-32-323.
145. OPPENHEIMER et ZOBELL.* — The grow and viability of 63 species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. — *Sears Found. Jour. of Marine Res.*, 1952-11-10.
146. PATEL (M.-K.) et KULKARNI (Y.-S.). — Nomenclature of bacterial plant pathogens. — *Indian Phytopathology*, 1954-4-74.
147. PAGET et LEMAN. — *Bull. Assoc. Dipl. Microb.*, Nancy, 1954, n° 5.
148. PATRICK et VERKMAN. — *Iowa State Coll. Journ. Sc.*, 1933-7-410.
149. PETTIT (P.). — Recherches cliniques et bactériologiques sur les infections aiguës de la cornée. — *Thèse méd.*, Paris, 1, 1900.

150. PRÉCHAUD (D.), PRÉCHAUD (M.) et SEGOND (L.). — *Ann. Inst. Past.*, 1951-80-97.
151. PIGOURY. — La gelose au foie, milieu de choix pour la chromogénèse de *Serratia marcescens*. — *Cr. Soc. Biol.*, 1954-148-1067.
152. POCHON (J.) et TCHAN (Y). — *Précis de microbiologie*, Paris; Masson, édit., 1948.
153. POE (C.-F.) et WHITE (B.-J.). — The effect of some organic ocmponent on the production of bacterial florescence. — *Arch. Intern. Pharmacodyn. Ther.*, 1953-93-232.
154. PON (D.-S.), TOWNSEND (C.-E.), WESSMANN, SCHMITT (G.-C.) et KING SALVER. — A Xanthomas parasitic on media of ce-real rusts. — *Phytopathology*, 1954-44-707.
155. PORTER (J.-R.). — *Bacterial chemistry and Physiology*. — Champman et Hall, London, 1 vol., 1950.
156. POSTGATE (J.-R.). — Métabolisme du soufre. — *J. Gén. Microb.*, 1951-5-714.
157. PRAMER (D.). — Observation on the uptake and translocation of the five actinomycètes antibiotics — *Ann. Appl. Biol.*, 1953-40-617.
158. PRAMER (D.). — The movment of Chloramphenicol and streptomycin in broad bean and tomato plants. — *Ann. Botany*, 1954-18-463.
159. PRÉVOT (A.-R.). — *Le soufre*, 1948-45.
160. PRÉVOT (A.-R.). — *Manuel de classification et de détermination des bactéries anaérobies*, 1 vol., Masson, 1948.
161. PRÉVOT (A.-R.). — *Rapport au I^{er} Congrès International d'Ecologie*, Paris, 1950.
- 162 PRÉVOT (A.-R.), FISCHER (G.), BIZZINI (B.) et RAYNAUD (M.). — *Cr. Acad. Sc.*, 1954-238-743.
163. PRINCE (H.) et CLEVERDON (R.-C.). — *I. of Bact.*, 1955-69-307.
- 163 bis. RAYNAUD (M.), BIZZINI (B.), FISCHER (G.) et PRÉVOT (A.-R.). — *Ann. Inst. Past.*, 1955-58.
164. RAYNAUD (M.), FISCHER (G.), PRÉVOT (A.-R.) et BIZZINI (B.). — *Ann. Inst. Past.*, 1956-91-267.
165. REGAMEY (R.). — *Schweiz. Med. Woch.*, 1938-23-666.
166. RIVERA (J.-A.). — Studies on *Pseudomonas* pigments. - Specific mediarequirements. — *Bact. Proceed.*, 1955-110.

167. RIZKI (M.-T.-M.). — The nature of the pigment induced by chromogenic inductor of *S. Marescens*. — *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 1954-40-1057 et 1135.
168. ROBINSON (R.-S.), STARKEY (R.-L.) et DAVIDSON (O.-W.). — Control of bacterial of chrysanthemum with streptomycin. — *Phytopathology*, 1954-44-646.
169. ROCHA, LEPIERRE et FONCESCA. — Un cas de fièvre infectieuse simulant la peste pneumonique produit par un bacille fluorescent. — *Cr. Soc. Biol.*, 1900-11-226.
170. ROSBERG (D.-W.) et PARRACK (A.-L.). — The electron attacking *Fanthomonas malvacearum*. — *Phytopathology*, 1955-45-49.
171. ROSSI. — *Veter Ital.*, 1955-6-603.
172. SABET (K.-A.) et DOWSON (W.-J.). — Studies on the bacterial dieback and canker of poplar. — *Ann. Appl. Biol.*, 1952-39-609.
173. SARTORY (A.), MEYER (J.) et WÆLDELL (J.). — Contribution à l'étude d'une violacéine obtenue à l'état cristallisé et provenant d'un bacille violet isolé d'un pus d'abcès dentaire. — *Cr. Acad. Sc.*, 1938-206-950.
174. SAVULESCU (Traian). — Contribution à la classification des bactéries phytopathogènes. — *IV^e Congrès International Microb.*, Copenhague, 1947, section VI, 133.
175. SAZ (J.), et HILLARY (E.-P.). — *Biochem. J.*, 1956-62-563.
176. SCHAUB (I.-G.) et HAUBER (F.-D.). — *J. Bact.*, 1948-56-379
177. SCHULTZ (E.-W.), THOMASSEN et MARTON (L.). — *Proceed. Soc. Exp. Med. Biol. and Med.*, 1948-68-451.
178. SCHOENTHAL (R.). — The nature of the antibacterial agents presents in *Pseudomonas pyocyanea* cultures. — *Brit. Journ Exp. Pathol.*, 1941-22-137.
179. SCHNABL (P.). — Pigments des Bakterien. — *Wien. Med. Woch.*, 1952-102-806.
180. SCOTT (N.-M.). — In « *System of Bacteriology* », London, 1929.
181. SEBEK et RANGLES. — The oxidation dissimilation of mannitol and sorbitol by *Ps. fluorescens*. — *J. Bact.*, 1952-63-637.
182. SEBEK et RANGLES. — The oxidation of the stereoisomeric 2-3 butanediol by *Ps. fluorescens*. — *Arch. Bioch. Biophys.*, 1952-40-373.
183. SEELIGER (H.). — Zur systematik des *Bact. anitratum*. — *Zentrbl. Bakt.*, 1953-159.

184. SENEZ (J.), KONOVALTSDRIKOFF et MAZOYER. — Formation d'acides gras dans les cultures de *Ps. aeruginosa* sur n-heptane. — *Cr. Acad. Sc.*, 1956-241-2873.
185. SGUROS (P.-L.) et HARTSELL (S.-E.). — Aerobic glucose dissimilation by *Achromoacter* species. — *J. Bact.*, 1952-64-811 et 821.
186. SIMON. — Contribution à l'étude de *Bacillus syncyanus* et de son pigment. — *Thèse Doct.*, Univers. Nancy, 1908.
187. SIMONART (P.). — *Bull. Agric. Congo Belge*, 1952-43-63.
188. SMYTHE. — *Adv on Enzymol.*, 1945-5-237.
189. SOBERNHEIM (G.). — *Zentrbl. f. Bakt.*, 1934-374.
190. SOBERNHEIM (G.). — *Zentrbl. f. Bakt.*, 1935-427.
191. SPENEER. — Taxonomy of certain luminous bacteria. — *J. Gen. Microbiol.*, 1955-13-111.
- 191 bis. STARKEY (R.-L.). — Rôle des microorganismes dans la transformation du soufre. — *Soil Science*, 1950-70-55.
192. STARKEY (R.-L.). — *J. Bact.*, 1934-28-387.
194. STARR (M.-P.), VOLCONI (El.) et MUNNECKE. — *Phytopathol.*, 1955-45-613.
195. STRONG. — Sur la violacéine. — *Science*, 1944-100-287.
196. STUART (C.-A.), FORMAL (I.-S.) et MEGANN (V.). — *J. infec. dis.*, 1949-84-235.
197. SUNDRAN et HACMAN. — *Nature*, London, 1957-179-149.
198. TAKEDA, MIYAZAKI et NAKADA. — *Japan. J. Exp. Med.*, 1953-23-451.
199. TAMBOLINE (Fr.). — *Rev. Canad. Biol.*, 1953-11-517.
200. TANNER. — *J Bacter.*, 1917-2-585.
201. TARR. — *Biochem. J.*, 1937-27-1869.
202. TARR. — Protection of the sorghum againts soil fungi, soil pest and covered smut by combined insecticid-fungicide seed dressings. — *Ann. Appl. Biol.*, 1954-41-578.
203. THOMAS, GALARNEAULT et LEIFSON. — Toxonomy of *Pseudomonas*. — *Canad. J. of Biol.*, 1956-2-102.
204. TOPLEY et WILSON. — *Principes of bacteriology and Immunity*, 2 vol., 3^e édit., London, 1948.
205. TOMASEC et WINTERHALTER. — *Veter. Arch.*, 1955-25-109.
206. TOTTER (J.-R.) et MOSELEY (F.-T.). — Influence of the concentration of iron on the production of fluorescine by *Pseud. aeruginosa*. — *J. Bact.*, 1953-65.

207. TRACEY. — Cellulase symposium. — *Bioch. Soc.*, 1953-11-49.
208. TRIBE (H.-T.). — *Ann. Botany*, 1955-19-351.
209. TURCK (I.). — Zur diffezierung der Bakterien alkaligenes. — *Gruppe Zeitshe. Hyg. infek. Krank.*, 1952-134-300.
210. TURCK (W. de). — *J. of. trait*, 1955-70-187.
211. VILLECOURT (P.), BLACHÈRE (H.) et JACOBELLI (G.). — Les fluorescents du sol. — *Ann. Inst. Past.*, 1952-83-216.
212. WARCK (D.-C.). — Factors influencing the developpement of bacteria blight of peas. — *Austr. J. Agr.*, 1954-5-365.
213. WEEKS (O.-B.). — *Flavobacterium aquatile*, etc... — *J. Bact. U. S. A.*, 1955-69-649.
214. WEINBERG (E.-D.). — *J. of. Bact.*, 1951-62-785.
215. WERKMAN (C.-W.) et WILSON (P.-W.). — *Bacterial physiology*, 1 vol., New-York, 1951.
216. WHIPPLE (G.-H.). — Luminous bacteria as a radiobiological test organism. — *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1954-43-415
217. WILES et WALKER (J.-C.). — The relation of *Ps. lachrymans* to con cumber fruit and sees. — *Phytophathology*, 1951-41-1059.
218. WILLIAM et GREEN (J.-A.). — Analysis of induced pigment of *S. marcescens*. — *Bact. Proceed.*, 1955-55.
219. WILLIAMS et GREEN (J.-A.). — Studies on pigmentation of *S. marcescens*. - The characterisation of orange variant. — *J. Bact.*, 1956-72-537, et *J. Bact.*, 1955-71-115.
220. WINOGRADSKY (S.). — *Microbiologie du sol*, 1 vol., Paris, Masson, 1949.
221. WOOD (R.-K.-S.). — *Ann. Botnay*, 1955-19-1.
222. WOOLLEY (D.-W.), PRINGLE (R.-B.), et BRAUN (A.-C.). — Isolation of the phytopathogenic toxin of *Ps. tabaci* and antagonist of methionine. — *J. Biol. Chem.*, 1952-197-409.
223. WOOLLEY (D.-W.), SCHAFFNER (G.) et BRAUN (A.-C.). — Isolation and determination of structure of a new amino acid contained within the toxin of *Pseu. tabaci*. — *J. Bioch. Chem.*, 1952-198-807.
224. WREDE et ROTHAAAS. — Sur la prodigiosine. — *Hope Seylers Zeitsch. f. Physiol. Chem.* tome 223, 303.
225. WREDE et ROTHAAAS. — *Sur la prodigiosine*, tome 224, 1934, 95.
226. ZOBELL. — *Marine Microbiology*, 1 vol., Weltram, Massach. 1948.

227. ZOBELL. — Bacterial release of oil from sedimentary materials. — *The oil and Gaz Journ.*, 1947-2.
228. ZOBELL (Cl.). — Part played by bacteria in Petroleum formation. — *Journr. of Sediment. Petrology*, 1952-22-42.
-

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté

“ Les Myxobacteriales ”

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 13 juin 1957.

*Le Doyen
de la Faculté des Sciences,*

J. PERES.

VU

ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le 19 Mars 1958.

*Le Recteur
de l'Académie de Paris,*

Jean SARRAILH.

TABLE DES MATIÈRES

	PAGES
Introduction	9
Historique	13

PREMIERE PARTIE

Souches isolées et techniques	25
Milieux sélectifs	27
Caractères biochimiques	29
Souches étudiées	35
Tableau général	84 et 85

DEUXIEME PARTIE

Métabolismes	87
Chromogénèse	90
Thiocomposés	94
Hydrocarbures et pétroles	103

TROISIEME PARTIE : DISCUSSIONS TAXINOMIQUES

	PAGES
Définition des <i>pseudomonadaceae</i>	119
<i>Acinetobacter</i>	120
<i>Achromobacter</i>	124
<i>Moraxella</i> , <i>Mimae</i> , <i>B. anitratum</i>	129
<i>Empedobacter</i>	135
<i>Cellulomonas</i>	136
<i>Aplanobacter</i>	139
Comparaison des classifications américaine et française .	141

Clés de détermination :

<i>Pseudomonas</i>	167
<i>Phytobacterium</i>	176
<i>Agrobacterium</i>	178
<i>Erwinia</i> ..	179
<i>Aplanobacter</i>	181
<i>Achromobacter</i>	182
<i>Acinetobacter</i> ...	186
<i>Chromobacterium</i>	189
<i>Flavobacterium</i>	190
<i>Xanthomonas</i>	193
<i>Empedobacter</i>	195
<i>Ptotaminobacter</i>	196
<i>Serratia</i>	197
Conclusions	199
Bibliographie	201

